

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-233670

(43)Date of publication of application : 23.08.1994

(51)Int.Cl.

C12M 1/00
C12N 15/10
G05B 13/00
G05D 23/19

(21)Application number : 03-340025

(71)Applicant : PERKIN ELMER CORP:THE

(22)Date of filing : 29.11.1991

(72)Inventor : MOSSA ALBERT CARMELO
GOVEN LISA MAY
ATWOOD JOHN GIRDNER
WILLIAMS FENTON
WOUDENBERG TIMOTHY M
MARCEL MARGRIES
ROBERT P RAGUSA
REES RICHARD

(30)Priority

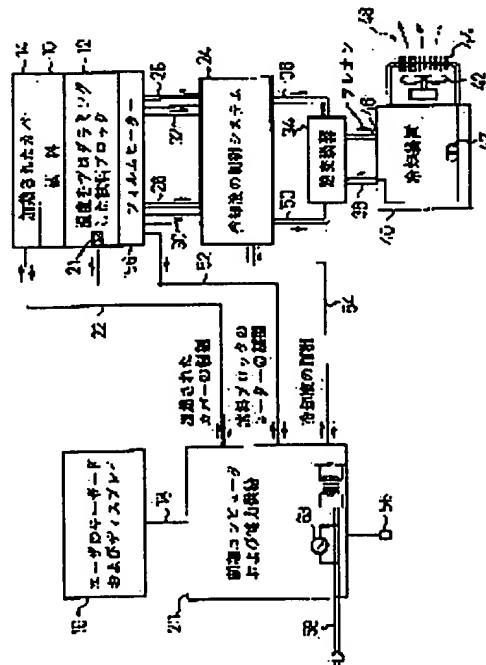
Priority number : 90 620606 Priority date : 29.11.1990 Priority country : US
91 670545 14.03.1991 US

(54) AUTOMATIC APPARATUS FOR CARRYING OUT POLYMERASE CHAIN REACTION USING TEMPERATURE CONTROL

(57)Abstract:

PURPOSE: To uniformly and accurately carry out PCR(polymerase chain reaction) on many samples by controlling the temperature of a liquid sample as a function of temperature variation with time of a sample block having a well for a test tube.

CONSTITUTION: In this automatic apparatus, a sample tube including a sample mixture containing DNA or RNA to be amplified is engaged with a well of a sample block 12 and covered with a heated cover 14. A temperature of the cover is kept at a prescribed temperature by controlling an electric resistance heater in the cover by a central processing unit 20. The central processing unit 20 controls a temperature of the sample block by detecting a temperature of the sample block with a temperature sensor 21 and sensing a temperature of a circulating cooling liquid. An amount of electric power applied to each zone of a multi-zone sample block film heater 156 is calculated with a desired PCR protocol and a cooling liquid control demand to a cooling liquid controlling system 24 is generated. At the time, data of a circumferential air temperature sensor 56 and a line voltage sensor 63 are also taken into consideration.



BEST AVAILABLE COPY

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 30.11.1998
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japanese Patent Office

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-233670

(43)公開日 平成6年(1994)8月23日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 12 M 1/00	A			
C 12 N 15/10				
G 05 B 13/00		9131-3H		
G 05 D 23/19	J	9132-3H		
		9050-4B		
			C 12 N 15/00	A
			審査請求 未請求 請求項の数8 FD (全162頁)	

(21)出願番号 特願平3-340025

(22)出願日 平成3年(1991)11月29日

(31)優先権主張番号 620606

(32)優先日 1990年11月29日

(33)優先権主張国 米国(U.S.)

(31)優先権主張番号 670545

(32)優先日 1991年3月14日

(33)優先権主張国 米国(U.S.)

(71)出願人 591047822

ザ パーキンーエルマー コーポレイション

アメリカ合衆国 コネチカット ノーウォーク メインアヴェニュー 761

(72)発明者 アルパート カーメロ モッサ

アメリカ合衆国、コネチカット 06611、トランブル、オクサン ヒル ロード 15

(72)発明者 リサ メイ ゴブン

アメリカ合衆国、コネチカット 06606、ブリッジポート、ピンセレッテ ストリート 535-ユニット 8

(74)代理人 弁理士 矢野 敏雄 (外2名)

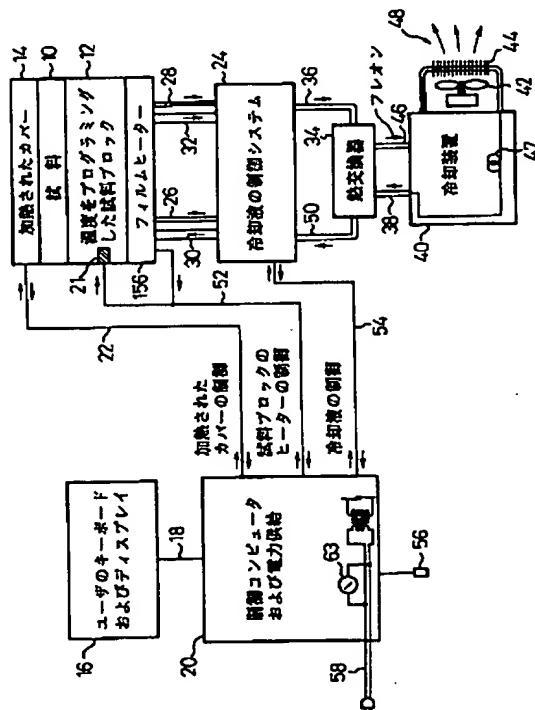
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 温度制御を用いたポリメラーゼ連鎖反応の自動実施装置

(57)【要約】

【目的】 試料ブロックを用いてマイクロタイタートレー内で極めて正確なポリメラーゼ連鎖反応を実施する機器を提供する。

【構成】 試料ブロックは局所的に熱バランスと対称性とを保つようになっている。コンピュータにより制御される、3つの領域を有するフィルムヒータと、同様にコンピュータにより制御されブロック中を流れる冷却剤の流れを調節するランプ冷却ソレノイド弁とが試料ブロック温度の制御に用いられる。微少な温度制御には一定のバイアス冷却が用いられる。また、試料温度は実測ではなく計算により求められる。加熱されたカバーはプラスチックキャップを変形させ、試料管を嵌合し、熱的に隔離するのに必要な最小限の力を与える。個々の試料管に自由度を与えるための使い捨てのプラスチックマイクロタイタートレーが使用される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 所定量の液体試料混合物を収容した少なくとも1つの試料管内におけるポリメラーゼ連鎖反応の、制御装置付自動遂行装置であって、

- a) 前記少なくとも1つの試料管用の少なくとも1つのウェルを備えた試料ブロック、
- b) 所定時間に亘る前記試料ブロックの温度の関数として前記液体試料混合物の温度を決定する手段を備えたコンピュータ、
- c) 前記試料ブロックの温度を変化させるために前記コンピュータによって制御される加熱及び冷却手段、及び、
- d) 前記試料ブロックへ熱的に連結され、前記所定時間に亘る該試料ブロックの温度を前記コンピュータへ送るブロック温度センサ、を具備した装置。

【請求項2】 所定量の液体試料混合物を収容した少なくとも1つの試料管内におけるポリメラーゼ連鎖反応の、コンピュータ、前記少なくとも1つの試料管用の少なくとも1つのウェルを備えた試料ブロック、該試料ブロックへ熱的に連結されるブロック温度センサ、及び前記試料ブロックの温度を変化させるために前記コンピュータによって制御される加熱及び冷却手段、を備えたコンピュータ制御式熱循環装置による自動遂行を、コンピュータ制御するための方法であって、

前記コンピュータは、

- a) 所定の時刻における前記試料ブロックの温度を読むステップ、
- b) 所定時間に亘る前記試料ブロックの温度の関数として前記液体試料混合物の温度を決定するステップ、及び、
- c) 前記液体試料混合物の温度の関数として前記加熱及び冷却手段を制御するステップ、を含む方法。

【請求項3】 ポリメラーゼ連鎖反応の自動遂行に適した熱循環装置であって、

- a) 主頂面及び主底面を備えた金属製試料ブロック、
- b) 前記主頂面に形成される相互に離間した試料ウェル群の配列、
- c) 前記試料ブロックが35～100°Cの範囲内の温度にあるときに、外熱の供給がない限り少なくとも0.1°C/秒の率で該試料ブロックを一様に冷却するのに充分な速度で、該試料ブロックに付与されるバイアス冷却、及び、
- d) コンピュータに応答して、前記バイアス冷却よりも高い割合で前記試料ブロックの温度を一様に昇温できるコンピュータ制御可能な加熱手段、を具備し、コンピュータの制御下で前記試料ウェルの配列を、35～100°Cの範囲において±0.5°Cの許容誤差で一定温度に維持可能な熱循環装置。

【請求項4】 ポリメラーゼ連鎖反応の迅速自動遂行に適した熱循環装置であって、

- a) 主頂面及び主底面を備えた低熱体からなる熱的に均質な金属製試料ブロックであって、上面の中心領域に配置され、工業規格のマイクロタイターブレートのフォーマットに適合する中心間隔を有した試料ウェル群の8×12の長方形配列と、該配列を包囲し、かつ前記中心領域の熱特性と類似の熱特性を有する保護帯からなる周縁領域とを備えた試料ブロック、
- b) 前記試料ブロックが35～100°Cの範囲内の温度にあるときに、外熱の供給がない限り少なくとも0.1°C/秒の率で該試料ブロックを一様に冷却するのに充分なバイアス冷却速度で、該試料ブロックを常に冷却するバイアス冷却装置、
- c) 複数の反応サイクルを決定する時間及び温度にわたるユーザデータを受け取りかつ記憶するコンピュータシステム、
- d) 該コンピュータシステムに制御され、前記試料ブロックを、100°Cから少なくとも4°C/秒、及び40°Cから少なくとも2°C/秒の傾斜冷却速度で選択的に冷却する傾斜冷却装置、
- e) 前記コンピュータシステムに制御され、前記試料ブロックの中心領域用の加熱ゾーンと前記保護帯用の加熱ゾーンとを備え、前記試料ブロックを35～100°Cの範囲内で一定温度に維持するのに必要な熱を供給可能で、かつ前記試料ブロックに傾斜加熱を供給可能な多ゾーン加熱装置、
- f) 前記試料ブロック上で鉛直に変位可能なプレスカバー、及び、
- g) 該カバーを昇降させ、かつ少なくとも300gの抵抗力に対抗して該カバーの鉛直位置を保持するカバー変位手段、を具備し、前記試料ウェルの配列を、35～100°Cの範囲において±0.5°Cの許容誤差で一定温度に維持可能な熱循環装置。
- 【請求項5】 上端で開放する円筒形の上方部分とそこから下方へ延びて閉鎖するテーパ状の下方部分とを備え、円形断面を有し、かつ前記上方部分の前記開放端の下方位置で前記上方部分から外側へ延びる包囲肩部を備えた所定構造のマイクロタイターブレートを96個まで非拘束に保持する2ピース構造のプラスチック製ホルダであって、
- a) 1ピースのトレーは、
- i) 工業規格のマイクロタイターブレートに適合する8×12の長方形配列に96個の穴を備え、これらの穴が、前記試料管の前記上方部分の外径よりわずかに大きくかつ前記肩部の外径より小さい径を有する平坦かつ水平なプレート部分と、
- ii) 該プレート部分を完全に包囲し、前記穴の1つに置かれた試料管の高さよりも高い位置まで上方へ延びる第1のトレー直立側壁と、
- iii) 前記プレート部分を包囲し、前記穴の1つに置かれた試料管の上方部分のほぼ底部まで下方へ延びる第2

のトレー直立側壁とを具備し、

b) 前記トレー内に置かれた全ての試料管に亘って前記トレーの内部に着脱自在に係合する1ピースのリテーナは、

i) 工業規格のマイクロタイタープレートに適合する8×12の長方形配列に96個の穴を備え、これらの穴が、前記試料管の前記上方部分の外径より僅かに大きくかつ前記肩部の外径より小さい径を有する平坦かつ水平なリテーナプレート部分と、

ii) 該リテーナプレート部分を包囲して該リテーナプレート部分から上方へ延びるリテーナ直立側壁とを具備し、

前記リテーナが前記トレーの内部に係合するとき、前記リテーナプレート部分は、前記トレー内に置かれた試料管の肩部の僅かに上方に位置し、前記第1のトレー直立側壁は前記リテーナ直立側壁とほぼ同一高さにあり、それにより前記トレー内に置かれた試料管は、鉛直方向及び横方向のいずれにも非拘束に保持されるホルダ。

【請求項6】 それぞれに内表面を有する相互に離間した試料ウェル群の配列を備える金属製試料ブロックを具備し、前記試料ウェル群が、上端縁を有するマイクロタイタープレート内に配置されかつそれぞれに試料混合物を収容する1つ以上の有蓋試料管を備え、前記マイクロタイタープレートが前記試料ブロック上に設置される、ポリメラーゼ連鎖反応の遂行に適した熱循環装置内で、前記有蓋試料管を包囲するカバーであって、

平坦かつ水平な矩形部分、該矩形部分の周縁部に沿って下方へ突出するスカート部分、及び前記矩形部分の少なくとも下面を加熱する装置を具備し、

前記試料管の蓋の頂部が、前記カバーに加わる熱及び下向きの力によって変形するとき、前記試料管に接触し、かつ前記試料ブロック上の前記マイクロタイタープレート及び試料管を包囲するように寸法決めされたカバー。

【請求項7】 試料混合物を収容する少なくとも1つのプラスチック製有蓋試料管を配置する試料ウェルを備えた、ポリメラーゼ連鎖反応の遂行に適した熱循環装置において、

前記少なくとも1つの試料管と前記との間に密な接触を与える被熱カバーを具備した装置。

【請求項8】 略円錐形の第1壁部と略円筒形の第2壁部とを具備し、前記第1壁部はその外面の略全体に亘り熱交換器の対応形状部分に接触するよう構成され、かつ前記第1壁部は前記第2壁部よりも実質的に薄い壁断面を有する使い捨て反応容器。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ポリメラーゼ連鎖反応（以後PCRという）を実施するためのコンピュータ制御の計器の分野に関する。より詳しくは、本発明は、多数の試料についてポリメラーゼ連鎖反応を同時に実施し

て、各試料についての結果を非常に高い精度で得ることができる自動化計器に関する。この高い精度は、なかでも、いわゆる「定量的PCR」を実施する可能性を提供する。

【0002】

【従来の技術】 PCRプロセスを使用してDNA（デオキシリボース核酸）を増幅するために、特別に構成した液状反応混合物を、いくつかの異なる温度のインキュベーション期間を含むPCRプロトコルを通してサイクルすることが必要である。反応混合物は種々の成分、例えば、増幅すべきDNAおよび少なくとも2つのプライマーから構成され、前記プライマーは増幅すべきDNAの伸長産生物をつくることができるよう、試料のDNAに対する十分に相補的であるように予め決定される。反応混合物は、種々の酵素および／または他の試料、ならびにいくつかのデオキシリボヌクレオシドトリホスフェート、例えば、dATP, dCTP, dGTPおよびdTTPを包含する。一般に、プライマーはオリゴヌクレオチドであり、核酸の鎖に対する相補的であるプライマーの伸長産生物の合成を誘発する条件下に、すなわち、ヌクレオチドおよび誘発因子、例えば、熱安定性DNAポリメラーゼの存在下に適当な温度およびpHにおいて、配置したとき、合成の開始点として作用することができる。

【0003】 ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）は、主として非常に簡単でありそして要求される設備のコストが比較的低いので、遺伝的分析に現象的に有望な技術であることが証明されている。PCRに対して重要なことは、サーモサイクリングの概念である。すなわち、DNAを溶融し、短いプライマーを生ずる一本鎖に対してアニーリングし、そしてそれらのプライマーを伸長して二本鎖のDNAの新しいコピーをつくる、交互する工程である。サーモサイクリングにおいて、PCR混合物をDNAを溶融するための高い温度（>90°C）から、プライマーのアニーリングおよび伸長のためのより低い温度（40°C～70°C）に反復してサイクリングする。PCRにおいて要求されるサーモサイクリングを実施するための最初の商業的システムであるパーキン・エルマー・セツス・DNA・サーマル・サイクラー（Perkin-Elmer Cetus DNA Thermal Cycler）は、1987年に導入された。

【0004】 PCRのための応用は、現在、基本的な研究から、多数の同様な増幅工程を日常的に実施する応用へと動きつつある。これらの応用範囲は、診断の研究、生物製剤学的開発、遺伝子の分析、および環境的試験を包含する。これらの応用範囲におけるユーザは、高い処理量、迅速な回転時間、および再現性ある結果を提供する高性能のPCRシステムから利益を受けるであろう。また、これらの応用範囲におけるユーザは、試料対試料、実験対実験、実験室対実験室、および計器対計器か

らの再現性を保証されるにちがいない。

【0005】例えば、ヒトのゲノムのプロジェクトにおける物理学的マッピングのプロセスは、配列標的部位(STS)を利用することによって、大きく簡素化することができる。STSは、PCRにより容易に増幅され、そして染色体上の位置を同定する短くかつ独特な配列である。このような部位を検査してゲノムの地図を作ることは、世界中を通じて再現性をもって実施することができるプロトコルを使用して、短い時間で、多数の試料を増幅することを必要とする。

【0006】PCRの試料の数が増加するにつれて、増幅工程を試料の調製および増幅後の分析と統合することがいっそう重要となる。試料の容器は急速なサーマルサイクリングを可能とするばかりでなく、かつまた溶媒抽出および遠心等の操作のための自動化された取り扱いを可能としなくてはならない。容器は絶えず小さい体積で働いて、試薬のコストを減少する。

【0007】一般に、PCRのサーマルサイクリングは異なる温度における少なくとも2回のインキュベーションを含む。これらのインキュベーションの一方は、プライマーのハイブリダイゼーションおよび触媒されたプライマーの伸長反応用のものである。他方のインキュベーションは変性、すなわち、二本鎖の伸長産生物を次のハイブリダイゼーションおよび伸長インキュベーション間隔において使用するための、一本鎖の錆型に分離するためのものである。PCRの詳細、PCRに必要な温度サイクルおよび反応条件、ならびにこの反応の実施に必要な種々の試薬および酵素は、米国特許第4,683,202号、米国特許第4,683,195号、EPO公報258,017号および4,889,818号(Taqポリメラーゼ酵素の特許)およびすべての他のPCRの特許(出願人、セツス・コーポレーション)に記載されている。

【0008】PCRの目的は、最初に供給した小さい体積の「種子」DNAと同一の、DNAを大きい体積で調製することである。この反応は、DNAの鎖をコピーし、次いで引き続くサイクルにおいてコピーを使用して他のコピーを発生することを包含する。理想的な条件下に、各サイクルは存在するDNAの量を2倍にし、これにより幾何学的進行において、反応混合物の中に存在する体積の「標的」または「種子」のDNAの鎖を生ずる。

【0009】典型的なPCRの温度サイクルにおいて、反応混合物を各インキュベーション温度に規定した時間の間正確に保持すること、および同一のサイクルまたは同様なサイクルを多数回反復することが必要である。典型的なPCRプログラムを94°Cの試料温度で開始して30秒間保持して、反応混合物を変性する。次いで、反応混合物の温度を37°Cに下げ、そして1分間保持してプライマーをハイブリダイゼーションさせる。次に、反

応混合物の温度を50°C~72°Cの範囲の温度に上げ、ここでそれを2分間保持して伸長産生物の合成を促進する。これは1サイクルを完結する。次いで、前のサイクルにおいて形成する伸長産生物の鎖の分離のために、反応混合物の温度を94°Cに上げることによって、次のPCRサイクルを開始する(変性)。典型的には、サイクルは25~30回反復する。

【0010】一般に、試料温度を次の温度にサイクルにおいて、いくつかの理由で出来るだけ迅速に変化することが望ましい。第1に、化学的反応はその段階の各々について最適な温度を有する。こうして、最適でない温度における消費時間が少ないとよい化学的結果が達成されることを意味する。他の理由は、各インキュベーション温度に到達後、各インキュベーション温度に反応混合物を保持する時間を最小することが必要であるということである。これらの最小のインキュベーション時間は、サイクルの完結に要する「床」または最短時間を確立する。試料のインキュベーション時間の間の遷移時間は、この最小サイクル時間に付加される時間である。サイクルの数はかなり大きいので、この追加の時間は増幅の完結に要する合計の時間を不必要に長くする。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】いくつかの従来の自動化されたPCRの計器において、反応混合物はキャップで閉じた、使い捨てプラスチック管の中に貯蔵された。このような管のための典型的な試料の体積はほぼ100μlであった。典型的には、このような計器は試料のDNAを充填した多数のこのようない管を使用し、そして反応混合物は金属のブロック中の試料のウェル(well)と呼ぶ孔に挿入された。PCRプロセスを実施するために、PCRプロトコルのファイルにおいてユーザーにより特定された規定した温度および時間に従い、金属ブロックの温度を制御した。次いで、コンピュータおよび関連するエレクトロニクスは、時間、温度およびサイクルの数など規定するPCRプロトコルのファイル中のユーザーの供給したデータに従い、金属ブロックの温度を制御した。しかしながら、これらの先行技術の計器において、すべての試料が正確に同一の温度サイクルを経験したわけではなかった。これらの先行技術の計器において、試料温度における誤差は金属の試料ブロック内の場所対場所の温度の不均一性、すなわち、ブロックの金属内に存在する温度勾配により発生し、これによりある試料はサイクルの特定の時間において他の試料と異なる温度を有した。さらに、熱を試料ブロックから試料に移すときの遅延が存在したが、遅延はすべての試料について同一ではなかった。PCRプロセスを首尾よくかつ効率よく実施するために、かついわゆる「定量的」PCRを可能とするために、これらの温度の遅延および温度の誤差は大きい程度に最小としなくてはならない。

【0012】試料の液体の熱の出入りのための時間の遅延を最小にしそして金属ブロック上の種々の点における温度勾配または温度の不均一性のための温度の誤差を最小にするという問題は、試料を含有する領域の大きさが大きくなるとき、とくに重大となる。工業的に標準のマイクロタイタープレートのフォーマットの中に配置された96の試料管を収容するために十分に大きい金属ブロックを有することは、PCR計器にとって高度に望ましい属性である。

【0013】マイクロタイタープレートは、生化学およびバイオテクノロジーの分野において多数の小さい試料を取り扱い、処理しそして分析するために、広く使用されている手段である。典型的には、マイクロタイタープレートは、3+5/8インチ(9.2cm)幅および5インチ(12.7cm)長さであり、そして9mmの中央に8ウェル×12ウェルの長方形の列の中に96の同一の試料ウェルを含有するトレーである。マイクロタイタープレートは広範な種類の材料、形状および体積の試料ウェルで入手可能であり、それらは多数の異なる使用について最適化され、すべてのマイクロタイタープレートは同一の全体の外側寸法および9mmの中央に同一の8×12のウェルの列を有する。この標準のマイクロタイタープレートのフォーマットにおける試料の取り扱い、処理および分析を自動化するための、広範な種類の装置は入手可能である。

【0014】一般に、マイクロタイタープレートは、射出成形または真空成形されたプラスチックであり、そして安価であり、使い捨て可能であると考えられる。交差汚染から生ずる法律上の責任および使用後のマイクロタイタープレートの洗浄および乾燥の困難のために、使い捨て可能性は極めて望ましい。したがって、マイクロタイタープレートのフォーマットで配置されている96までの試料について同時にPCR反応を実施できることは、PCR計器について極めて望ましい特性である。

【0015】もちろん、9mmの中央上の8×12ウェルの列の96試料を加熱および冷却するために必要な金属ブロックの大きさは、かなり大きい。この大きい面積のブロックは、一般に0~100°Cの温度範囲に試料間の温度の変動についての許容度を非常に小さくしてこのようなブロックを非常に急速に加熱および冷却できるPCR計器の設計について、多数の対抗する工業的問題をつくる。これらの問題はいくつかの原因から生ずる。第1に、ブロックの大きい熱的質量は、ブロックの温度を操作範囲内で大きい速度で上下させることを困難とさせる。第2に、種々の装置、例えば、冷却後の供給および抜き出しのためにマニホールド、ブロックの支持取り付け点、および関連する他の周辺装置にブロックを取り付ける必要性は、許容可能な限界を越えた温度勾配がブロックを横切って存在させる可能性をつくる。

【0016】また、多数の試料の急速な、正確な温度サ

イクルを必要とするPCR反応または他の反応の自動化実施のための、サーマルサイクリングの設計における要件の間に、多数の他の衝突が存在する。例えば、金属ブロックの温度を急速に変化させるために、大量の熱を短い時間で試料ブロックから出入りさせなくてはならない。熱は電気抵抗ヒータからか、あるいは加熱された流体をブロックと接触させて流すことによって添加することができる。熱は冷却された流体をブロックと接触させて流すことによって急速に除去できる。しかしながら、これらの手段により、試料の間で温度の不均一性を生じる温度勾配を形成するような、ブロック中の場所対場所で大きい温度差をつくらないで、金属ブロックに大量の加熱を出入りさせることは不可能であるように思われる。

【0017】熱の添加または除去の停止後でさえ、ブロック中の種々の点において貯蔵された熱がより冷たい領域に移動して温度勾配を排除しなくてはならない距離の平方にほぼ比例する時間の間、温度勾配は持続することができる。こうして、金属ブロックをより多くの試料を収容するためにより大きく作ると、温度変化がより大きい寸法を横切って存在する温度勾配を引き起こした後、ブロックの中に存在する温度勾配が消滅するためには要する時間は顕著に長くなる場合がある。これは、すべての試料の間で正確な温度の均一性を維持しながら、試料ブロックの温度を急速にサイクルする困難を増加させる。

【0018】温度勾配を消散させるに要する時間に起因して、ブロック中の大きい距離にわたって存在する温度勾配の発生を防止するために、高い性能のPCR計器の設計において、重要な必要性が発生した。他の必要性は、金属部分またはブロックに取り付けられた他の周辺装置の間の機械境界を横切って熱が移動するという要件を、出来るだけ非常に多く、回避することである。ジョイントを横切ってすべての場所で高い温度伝導性を均一に保証する方法で、金属部分を接合することは困難である。熱伝導性の不均一性は望ましくない温度勾配を発生するであろう。

【0019】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、試料ブロック中の試料温度の変化と反応混合物中の温度変化との間の遅延を減少するための、薄い壁の試料管が開示される。2つの異なる大きさの試料管を開示するが、各々は試料ブロック中の合致する円錐形のくぼみの中に嵌合する薄壁の円錐形区画を有する。典型的には、縦軸に関して17°の角度をもつ円錐を使用して、試料ブロックの中への管のジャミングを防止するが、すべりばめを可能とする。他の形状および角度も、本発明を実施するために十分であろう。

【0020】また、試料ブロック以外の、例えば、液体浴、オープンなどの、他の型の熱交換器を使用すること

ができる。しかしながら、何らかの熱交換器と接触する試料管の区画の壁厚さは、PCRのサイクリングの熱的ストレスおよび通常の使用のストレスに十分に耐えられる範囲内で、出来るだけ薄くあるべきである。典型的には、試料管はオートクレーブ処理可能なポリプロピレン、例えば、0.009~0.012インチ±0.001インチ(0.23~0.30mm±0.03mm)の範囲の円錐形区画の壁厚さをもつHimont PD701から作られる。より好ましくは、壁厚さは0.012インチ(0.30mm)である。

【0021】好ましい実施態様において、試料管は、また、円錐形区画と接合する、より薄い壁の円筒形区画を有する。この円錐形区画はもとの反応混合物またはPCRプロセス後に添加できる試薬を含有する。図51に示す試験管は、他のPCRシステムにおける適合性のための薄い壁を除外して、工業的に標準の形状を有する。図15の試料管は、ここに開示するシステムとともに使用できる、短い管である。薄い壁の試料管の使用が好ましいシステム環境の他の実施態様を以下に要約する。

【0022】非常に急速な温度サイクルのPCRプロトコルの実施の間に、マイクロタイタープレートのフォーマットにおいて配置された非常に大きい数の試料について、非常に正確な温度制御を達成する新規な方法および装置をさらに開示する。本発明の教示は、試料ブロック、試料管および支持の取り付け、加熱および冷却装置、制御エレクトロニクスおよびソフトウェアについての新規な構造、新規なユーザのインターフェースおよびPCRプロトコルを実施するために前記装置を使用する新規な方法を包含する。

【0023】ここに開示される装置は、多数の試料を横切って温度制御の非常に精密な許容度で96までの試料についてPCR遺伝子増幅を実施するように設計される。すなわち、すべての試料は、異なる試料を含有する異なるウェルの間の温度差を非常に小さくすると同時に、温度が上下する。これはポリメラーゼ連鎖反応のサイクルを通じて真実である。また、この装置は、各試料ウェル中の蒸発および凝縮のプロセスの制御により、反応混合物の濃度を非常に厳密に制御することができる。さらに、この装置は、試料ウェルの間の交差汚染を実質的になくして、各々が異なるドナーからの100μlの96までの試料を処理することができる。

【0024】本発明は、標準の96ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットにおいてアルミニウムの試料ブロックを加熱および冷却して試料を熱的にサイクリングし、その結果、急速なサーマルサイクリング速度、制御しない変化する周囲温度および他の操作条件、例えば、電力ラインの電圧および冷却液温度にかかわらず、きわめてすぐれた試料対試料の均一性が存在する新規な方法を包含する。

【0025】また、本発明は、各試料管が加熱されたカ

バーからの下降する圧力下に試料ブロックと最良の嵌合を見いだすために十分な個々の動きの自由度を有するとともに、サーマルサイクリングのためのDNAを含有する96までの個々の試料管を収容する、使い捨てプラスチック96ウェルのマイクロタイタープレートのための新規な構成を包含する。各管の最良の嵌合を可能とすることによって、試料ブロックの金属と試料管およびマイクロタイタープレートの構造のプラスチックとの間の熱的膨張および収縮の速度の差が、使い捨てマイクロタイタープレートの構造において、試料管の中心対中心の距離に関して、試料ブロック中のウェルの相対的中心対中心の寸法を変化させる場合でさえ、マイクロタイタープレートの設計は試料ブロック対各試料管の高くかつ均一な熱伝導性を提供する。

【0026】さらに、本発明は、処理されている試料の温度を直接測定しないで、これらの温度を連続的に計算しきつ表示する能力を有した、PCR計器を制御する新規な方法および装置を包含する。これらの計算された温度を使用して、試料が各標記インキュベーション温度について所定の温度の許容度のバンド内に保持される時間を制御する。この制御システムは、また、試料ブロックに熱的に連結した3ゾーンのヒータを制御し、そして試料ブロック中の方向的に交錯したランプ冷却チャンネルを通して流体の流れをゲート(gate)し、流体の流れは、試料ブロックを通る冷却液の一定のバイアス冷却流と組み合ったとき、ユーザが特定する標的温度への急速な温度変化およびその温度における正確な温度制御を達成する設備を提供する。3ゾーンのヒータを制御する方法および装置は、なかでも、3ゾーンのヒータの種々のゾーンへ供給すべき電気的エネルギーの量を計算するとき、ライン電圧、ブロック温度、冷却液温度および周囲温度を考慮する。このヒータは、試料ブロックのへりまたは「ガードバンド」の下で別々に制御することができ、こうして試料ブロックのへりへ取り付けられた周辺装置を通る周囲への過剰の熱損失を補償できるようにする、ゾーンを有する。これは温度勾配の形成を防止する。

【0027】さらに、本発明は、試料をそれらの沸点付近の温度においてインキュベーションするとき、反応混合物からの溶媒の損失を防止する新規な方法および装置を包含する。加熱された定盤は試料管の上部をカバーし、そして個々のキャップと接触し、これらのキャップは各試料管に気密シールを提供する。定盤からの熱は各試料管およびキャップの上部を凝縮点より上の温度に加熱するので、試料管内で凝縮および還流は起こらない。凝縮は比較的大きい熱移動を表す。なぜなら、蒸発熱に等しい量の熱が水蒸気の凝縮に消費されるからである。これは、凝縮が均一に起こらない場合、試料対試料の大きい温度の変動を引き起こすことがある。加熱された定盤は、試料管中の凝縮の発生を防止し、これによりこの

潜在的な温度誤差源を最小にする。加熱された定盤の使用は、また、試薬の消費を減少する。

【0028】すべての試料管を温度制御した試料ブロックの中にしっかりとプレスして、各管について均一なブロック対管の熱伝導を確立しつつ維持するために必要な、実験的に決定した最小の下向きの力を越える下向きの力を各試料管を提供する。熱伝導のこの均一性は、管対管の長さ、直径、角度または他の寸法の誤差の変動に無関係に確立され、これらはそうでなければある試料管を他の試料管より対応する試料ウェルの中によりきっちりと嵌合させる。

【0029】加熱された定盤は、各キャップのプラスチックを軟化するが、キャップの弾性に完全に破壊しない。こうして、最小の限界の下向きの力を、管対管の管の高さの差にかかわらず、各管に連続的に加える。ここに記載するPCR計器は、2倍またはそれ以上サイクル時間を減少し、そしてPCR体積を20uhまで試薬のコストを下げるが、工業規格との適合性を残す。

【0030】

【実施例】図1を参照すると、本発明の教示に従いPCRを実施するためのコンピュータ制御の計器の1つの実施態様の主要なシステム成分のブロック線図が示されている。增幅すべきDNAまたはRNAを含む試料混合物を温度プログラム可能な試料ブロック12の中に配置し、そして加熱されたカバー14でカバーする。

【0031】ユーザは、キーボードおよびディスプレイを含む端末16を経て、所望のPCRプロトコルの時間および温度のパラメーターを定めるデータを供給する。キーボードおよびディスプレイはバス18を経て制御コンピュータ20（以後中央処理装置またはCPUと呼ぶ）に連結する。この中央処理装置20は、下に記載する制御プログラム、所望のPCRプロトコルおよび下に記載するある種の較正定数を記憶する記憶装置を包含する。制御プログラムはCPU20が試料ブロック12の温度サイクリングを制御するようにさせ、そしてユーザのインターフェースを実施し、そしてユーザのインターフェースはある種のディスプレイをユーザに提供し、そしてユーザにより端末16のキーボードを経て入力されたデータを受けとる。

【0032】好ましい実施態様において、中央処理装置20はカスタム設計される。エレクトロニクスのブロック線図は以下により詳細に論ずる。他の実施態様において、計器の種々のヒータおよび他の電気-機械的システムを制御しそして種々のセンサーを読み中央処理装置20および関連する周辺エレクトロニクスは、任意の汎用コンピュータ、例えば、適当なプログラムによるパーソナルコンピュータまたはマイクロコンピュータである。試料10を試料ブロック12の中に配置されたキャップ付き使い捨て管の中に貯蔵し、そして加熱されたカバー14により周囲空気から隔離し、そして加熱されたカバー14により周囲空気から隔離し、そして加熱されたカバ

ー14は下に記載するプラスチックの使い捨てトレーと接触して、試料管が内部に存在する加熱された箱体を形成する。加熱されたカバーは、なかでも、試料管内の蒸発、凝縮および還流により、試料混合物を出入りする望ましくない熱移動を減少する働きをする。それは、また、キャップの内側を乾燥に保持し、これにより管からキャップを取ったとき、エアソールの形成を防止することによって、交差汚染の機会を減少する。加熱されたカバーを試料管のキャップと接触させ、そしてそれらをほぼ104°Cまたは反応混合物の種々の成分の凝縮点より上に加熱して保持する。

【0033】中央処理装置20は、加熱されたカバー14の温度を感知しそしてその中の電気抵抗ヒータを制御してカバー14を所定の温度に維持するために、適当なエレクトロニクスを包含する。加熱されたカバー14の温度の感知およびその中の抵抗ヒータの制御は、温度センサー（図示せず）およびバス22を経て達成される。

【0034】冷却液制御システム24は、冷却された冷却液、例えば、自動車のアンチフリーズおよび水の混合物を、試料ブロック12中のバイアス冷却チャンネル（図示せず）を通して、入力管26および出力管28を経て、連続的に循環させる。冷却液制御システム24は、また、試料ブロック12中のより高い体積のランプ冷却流体の流路（図示せず）を通る流体の流れを制御する。ランプ冷却チャンネルを使用して、試料ブロック12を通して大きい体積の冷却された冷却液を比較的高い流速で送ることによって、試料ブロック12の温度を急速な変化させる。ランプ冷却冷却液は試料ブロック12に管30を通して入り、そして管32を通して試料ブロック12から出る。冷却液制御システムの詳細は図46に示されている。冷却液制御システムは、制御システムのエレクトロニクスおよびソフトウェアの説明において以下により詳細に論ずる。

【0035】典型的には、試料ブロック12の冷却に使用する冷却液は、主として水とエチレングリコールとの混合物から成る。冷却液は熱交換器34により冷却され、そして熱交換器34は試料ブロック12から熱を抽出した冷却液を入力管36から受けとる。熱交換器34は、冷却装置40から入力管38を経て圧縮された液体のフレオン冷却剤を受けとる。この冷却装置40はコンプレッサー（図示せず）、ファン42およびフィン管加熱ラジエーター44を包含する。冷却装置40は、管46を経て熱交換器34から受けとったフレオンガスを圧縮する。気体のフレオンはフィン管凝縮器44において冷却されそして液体に凝縮される。液体のフレオンの存在は、絞り弁式毛管47によりフィン管凝縮器中のその蒸気圧より上に維持される。この毛管の出力は管38を経て熱交換器34の入力に連結される。熱交換器において、フレオンの圧力はフレオンの蒸気圧より下に低下し、そしてフレオンが膨張する。この膨張プロセスにお

いて、熱は熱交換器中を循環する加温された冷却液から吸收され、そしてこの熱はフレオンに移動し、これによりフレオンは沸騰するようになる。次いで、加温されたフレオンは熱交換器から管16を経て抽出され、そして圧縮されそして再びフィン管凝縮器44を通して循環される。ファン42はフィン管凝縮器44を通して矢印48で示すように空気を流して、フレオン中の熱を管46から周囲の空気と交換させる。冷却装置40は30℃において400ワットの熱および10℃において100ワットの熱を冷却液から抽出して、本発明の教示に従い急速な温度のサイクルを支持することができる。

【0036】好ましい実施態様において、図1の装置はハウジング(図示せず)内に囲まれている。周囲の空気へ追い出された熱48はハウジング内に保持され、冷却された冷却液またはフレオンを1つの場所から他の場所に運ぶ種々の管上に起こる凝縮の蒸発を促進する。凝縮は、装置またはエレクトロニクスの回路の構成において使用した金属の腐食を引き起こすことがあり、したがって除去すべきものである。囲いの内側の熱48は、凝縮の蒸発を促進して腐食を防止する。

【0037】その熱をフレオンと交換した後、冷却液は熱交換器34を管50を経て出て、冷却液制御システムに再び入り、ここで端末16を経てユーザが入れたデータにより定められるPCRサイクルの急速な冷却部分の間、冷却液は必要に応じて試料ブロックへゲートされる。上記のように、PCRプロトコルは少なくとも2つの異なる温度およびしばしば3つの異なる温度におけるインキュベーションを包含する。典型的なPCRサイクルは図11に示されており、ここで変性インキュベーション170は94℃付近の温度において実施し、ハイブリダイゼーションインキュベーション122は室温付近の温度(25℃～37℃)において実施し、そして伸長インキュベーション174は50℃付近の温度において実施する。これらの温度は十分に異なり、したがって、すべての試料の反応混合物の温度を1つの温度から他の温度に急速に動かす手段を準備しなくてはならない。ランプ冷却システムは、試料ブロック12の温度を高い温度の変性インキュベーションからより低い温度のハイブリダイゼーションインキュベーションおよび伸長インキュベーションの温度に急速に低下させる手段である。典型的には、冷却液の温度は10～20℃の範囲である。冷却液が20℃であるとき、それは約400ワットの熱を試料ブロックから送り出すことができる。典型的には、ランプ冷却チャンネルの寸法、冷却液の温度および冷却液の流速は、5～6℃/秒のピーク冷却が操作範囲の高い端(100℃)付近において達成され、かつ2.5℃/秒の平均の冷却速度が試料ブロックの温度を94℃から37℃にするととき達成されるようにセットする。

【0038】ランプ冷却システムは、ある実施態様において、試料ブロックの温度を標的のインキュベーション

温度にまたはその付近に維持するために使用できる。しかしながら、好ましい実施態様において、標的インキュベーション温度を維持するための下向き試料ブロック12の小さい温度変化はバイアス冷却システムにより実施される。

【0039】図46に示すように、ポンプ41は濾過貯留槽39(130mlの容量)から1/2インチ管を経て冷却液を絶えず送り、そしてそれを1/2インチ管を経て分岐47へ送る。ポンプ41は冷却液をパイプ45にて1～1.3ガロン/分の一定の流速で供給する。分岐47において、管45中の流れの部分はバイアス冷却チャンネル49を通して一定の流れとして転向する。管45中の流れの他の部分は、絞り弁51を通して出力管38に転向する。絞り弁51はこのシステムにおいて十分な圧力を維持し、こうしてバス54を経るCPU20の制御下に2状態のソレノイド作動弁55の入力53において正の圧力が存在する。ランプ冷却は急速な下向きの温度変化の実行に望むとき、CPU20はソレノイド作動弁55を開放し、冷却液をランプ冷却チャンネル57を通して流れさせる。8つのランプ冷却チャンネルが存在するので、各ランプ冷却チャンネルを通る流量は約1/8ガロン/分である。バイアス冷却チャンネルを通る流量は、その大きく制限された断面積のために、非常に少ない。

【0040】バイアス冷却システムは、試料ブロック12中のバイアス冷却チャンネル49を通して冷却された冷却液の小さい一定の流れを提供する。これは試料ブロック12から一定の小さい熱損失を引き起こし、これはマルチゾーンヒータ156により補償され、マルチゾーンヒータ156は試料ブロックの温度を安定した値に維持すべきインキュベーションセグメントのために試料ブロック12に熱的に連結されている。バイアス冷却の流れにより引き起こされる一定の小さい熱損失は、小さい温度のための温度の上下の比例的制御を制御システムに実行させる。これが意味するように、両者の加熱および冷却を制御された予測可能な小さい速度で温度サーボシステムは利用して、ブロック温度の誤差を補正してブロック温度が信頼性をもって、ユーザが入れたPCR温度のプロファイルをたどるようにする。別法はフィルムヒータへの電力をカットオフし、そしてブロック温度が高すぎたとき、試料ブロックが熱を放射および対流により周囲に放出するようにさせることである。これは、定量的PCRサイクリングのための厳密な温度制御の規格を満足するためには遅すぎそして予測不可能である。

【0041】このマルチゾーンヒータ156は図1においてCPU20によりバス52を経て制御され、そして試料ブロック12の温度をより低いインキュベーション温度からより高いインキュベーション温度に急速に上昇させる手段であり、そしてバイアス冷却を補償しそしてインキュベーションの間の温度のトラッキングおよび制

御の間、温度誤差を上方に補正する手段である。

【0042】他の実施態様において、バイアス冷却は排除するか、あるいは他の手段、例えば、試料ブロックの金属の中に形成された冷却ファンまたは冷却フィン、ペルチエ接合または絶えず循環する水道水により供給することができる。しかしながら、これらの他の実施態様において、温度勾配が試料ブロックの中につくられないよう注意しなくてはならない。温度勾配はある試料の温度を他の試料の温度からそらせ、これによりある試料におけるPCR增幅の結果を他の試料のそれと異ならせる。好ましい実施態様において、バイアス冷却はブロック温度と冷却液温度との間の差に比例する。

【0043】CPU20は、図1において試料ブロック12の金属の温度を温度センサー21および52を経て感知することによって、冷却液制御システムにおいて循環冷却液の温度をバス54および温度センサーを経て感知することによって、試料ブロック12の温度を制御する。冷却液のための温度センサーは図46において61に示されている。CPUは、また、図1においてシステムのハウジング内の内部の周囲空気の温度を周囲空気温度センサー56により感知する。さらに、CPU20はライン58上の入力電力のためのライン電圧を感知63を経て感知する。データのすべてのこれらの項目は、所望のPCRプロトコル、例えば、インキュベーションのための標的の温度および時間を定めるユーザが入れたデータの項目と一緒に、より詳細に後述する制御プログラムにより使用される。この制御プログラムは、マルチゾーン試料ブロックフィルムヒータ156の種々のゾーンへバス52を経て加える電力の量を計算し、そして冷却液制御システム24においてソレノイド作動弁55を開閉する冷却液制御信号をバス54を経て発生して、試料ブロックの温度がユーザが入れたデータにより定められるPCRプロトコルに従うようにさせる。

【0044】図2を参照すると、試料ブロック12の上面図が存在する。試料ブロック12の目的は、薄い壁の試料管の列のための機械的支持および熱交換要素を提供することであり、ここで各試料管中の試料の液体と試料ブロック12の中に形成されたバイアス冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルの中を流れる冷却液との間で熱が交換される。試料ウェルの種々のものとの間で大きい温度勾配をつくらないでこの熱交換機能を提供し、こうして列中のすべての試料混合物が、空間的に分離されていてさえ、同一PCRサイクルを経験するようにさせるのは、試料ブロック12の機能である。ここに記載するPCR計器の全体の目的は、複数の試料について試料液体の温度を非常に厳密に制御し、こうしていずれの試料液体の温度も他の試料ウェル中のいずれの他の試料液体の温度とPCRサイクルのいずれの点においても感知し合うほど(ほぼ±0.5°C)変化しないようにすることである。

【0045】「定量的」PCRと呼ばれるPCR技術の出現するプランチが存在する。この技術において、この目的は標的DNAの量をサイクル毎に正確に2倍することによってPCR增幅を出来るだけ正確に実施することである。サイクル毎の正確な2倍は達成が困難であるか、あるいは不可能であるが、厳密な温度制御は役に立つ。

【0046】多数の誤差源が存在し、これらのために、PCRサイクルはサイクルの間の標的DNA(以後DNAはまたRNAを呼ぶと理解すべきである)の量を正確に2倍にすることができないことがある。例えば、あるPCR增幅において、このプロセスは標的DNAの単一の細胞を使用して開始する。この単一の細胞が試料管の壁に粘着しそして最初の数サイクルにおいて増幅するとき、容易に起こりうる誤差は生ずる。

【0047】誤差の他の型は、「外来」標的DNAを攻撃する外来ヌクレアーゼが反応混合物の中に入ることである。すべての細胞は、細胞内で解放される外来DNAを攻撃する非特異的ヌクレアーゼを有する。これが起るとき、それは複製プロセスを妨害するか、あるいは停止させる。こうして、1滴の唾液またはふけの粒子または他の試料混合物からの物質が試料混合物の中に偶発的にに入る場合、これらの細胞中のヌクレアーゼ物質標的DNAを攻撃しそして増幅プロセスにおいて誤差を生ずる。すべてのこのような交差汚染源を排除することは高度に望ましい。

【0048】他の誤差源は、異なる試料の多重性の種々のものの間のように、試料混合物の温度の制御が不正確さである。例えば、すべての試料が伸長インキュベーションのために適切なアニーリング温度(通常50~60°Cの範囲のユーザが選択した温度)を有するように正確に制御されない場合、DNAのある種の形態は適切に伸長されないのであろう。これが起る理由は、温度が低すぎる場合、伸長プロセスにおいて使用するプライマーが誤ったDNAにアニーリングすることである。アニーリング温度が高すぎる場合、プライマーは標的DNAにまったくアニーリングしないのであろう。

【0049】PCR增幅が診断試験、例えば、HIV抗体、肝炎、または遺伝病、例えば、錐状赤血球貧血などの存在についての診断試験の一部分であるとき、PCR增幅プロセスの実施の結果を不正確に容易に想像することができます。このような診断試験における誤った陽性または誤った陰性の結果は、不幸をもたらす人為的または法律的結果を有することがある。したがって、ここに記載するPCR計器の設計の目的は、これらの起こりうる誤差源、例えば、交差汚染または劣った温度制御の出来るだけ多くを排除すると同時に、工業的に標準の96ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットと適合する計器を提供することである。この計器は柔軟な方法で簡単なユーザのインターフェースを使用してPCRを急

速に実施しなくてはならない。

【0050】好ましい実施態様において、試料ブロック12は比較的純粹であるが、腐食抵抗性のアルミニウム、例えば、6061アルミニウム合金から機械加工する。アルミニウムの充実ブロックからブロック構造を機械加工すると、熱的に均質な構造が生ずる。鋳造したアルミニウム構造体は、非常に厳密な所望の温度制御の規格を満足するために必要なほど、熱的に均質である傾向はない。

【0051】試料ブロック12は、このブロックの熱的質量は低く保持されているので、急速な温度変化を行うことができる。これは多数の冷却通路、試料ウェル、みぞおよび他のねじ孔または非ねじ孔をブロックの中に形成することによって実施される。これらの孔のいくつかを使用して、ブロックを支持体に取り付けそして外部の装置、例えば、マニホールドおよびこぼれトレーを取り付ける。

【0052】試料ブロックの構造の「ハニカム」性質を最もよく理解するために、ブロックを平面図で示す図2ならびに試料ブロックの正面図および断面図を示す図3～図8を同時に参照する。例えば、図3は図2の線3-3'の視点から取った冷却チャンネルの位置を示す正面図である。反対側から見た、試料ブロック12の溶媒は同一である。図4は図2の線4-4'の斜視からの試料ブロック12のへりの正面図である。図5は図2の線5-5'の斜視からの試料ブロック12のへりの正面図である。図6は図2の線6-6'に沿って取った試料ブロック12の断面図である。図7は図2の線7-7'に沿って取った試料ブロック12の断面図である。図8は図2の線8-8'に沿って取った試料ブロック12の断面図である。

【0053】試料ブロック12の上部表面は、円錐形試料ウェルの8×12列が孔開けされており、66および68のウェルは典型的である。各試料ウェルの円錐形の形状は図8に最もよく示されている。各試料ウェルのウェルは17°の角度で孔開けされていて、各試料管の円錐形区画の角度と合致している。これは図8において直径D_wを有するパイロット孔を孔開けすることによって実施される。次いで、17°のカウンターシンクを使用して円錐形壁67を形成する。

【0054】各試料ウェルの底は、試料管の先端の浸透深さを越える深さを有する溜70を含む。溜70はパイロット孔によりつくられ、そして試料管が対応する試料ウェルの中に配置されるとき、試料管より下に小さい開いた空間を提供する。この溜は、試料ウェルの壁への各試料管の緊密な嵌合を妨害せずに、液体、例えば、ウェル壁上に形成する凝縮物が存在するための空間を提供する。この緊密な嵌合は、ウェル壁から試料液体への熱伝導性を各試料管について均一かつ高くすることを保証する。1つの管についてゆるい嵌合を引き起こすウェル中

の汚染は、列を横切る熱伝導性のこの均一性を破壊するであろう。すなわち、試料ウェル中の試料管の配置に関する圧力で液体は実質的に圧縮されないので、溜70が存在しない場合、試料ウェルの底中の液体の存在はその試料ウェル中の試料管の完全な配置を妨害することがある。さらに、溜70はある空間を提供し、この空間において、溜70の中に存在する液体の気相は高い温度のインキュベーションの間に膨張し、こうして溜70が存在しない場合存在であろうこのような膨張の大きい力が試料管に加えられて試料ウェルとの同一高さの接触から管は押して分離されることはない。

【0055】実験において、各試料管はその対応する試料ウェルと同一高さで接触することが重要であること、そしてある最小の限界の力を各試料管に加えて、試料ウェルの壁と反応混合物との間の熱伝導性を列を通じて均一に保持されることが発見された。この最小の限界の配置力は、図15に力のベクトルFとして示されており、そして1つの試料管の壁を通る熱伝導性がブロック中のどこかに位置する他の試料管を通る熱伝導性と異なるのを防止するための、主要な因子である。最小の限界の配置力Fは30gであり、そして好ましい力のレベルは50～100gである。

【0056】試料ウェルの列は、図2、図6および図8において最もよく見られるように、2つの機能を有するみぞ78により実質的に完全に取り囲まれている。主な機能は試料ブロックの中央区域からブロックのへりへの熱伝導性を減少することである。みぞ78は試料ブロックの厚さを約2/3通して延びる。このみぞは、支持ピン、マニホールドなどのブロックへの必要な機械的接続により引き起こされる、回避不可能な熱勾配の作用を最小とする。第2機能は熱的質量を試料ブロック12から除去して、試料ブロック12の温度をより急速に変更し、そして「ガードバンド」と呼ぶへり領域におけるウェルの列をシミュレーションすることである。図2における点80および82の間のみぞ78の部分により除去される金属の量は、8つの試料ウェル83～90の隣接する列により除去される金属の量に実質的に等しいよう設計される。この目的は、ガードバンドの熱的質量を隣接する「局所的ゾーン」、下により完全に説明する用語、の熱的質量に一致させることである。

【0057】図3、図6および図8をとくに参照すると、試料ブロック12の金属の中に形成された、種々のバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの数および相対的位置が示されている。9つのバイアス冷却チャンネル91～99が存在する。同様に、8つのランプ冷却チャンネル100～107が存在する。これらのバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの各々は試料ブロックのアルミニウムを通してガン孔を開けられる。ガン孔開け法はよく知られており、そして試料ブロック12の底表面110に出来るだけ近く存在す

る長い非常に真っすぐな孔を開ける能力を提供する。ガソル開け法は真っすぐな孔を開けるので、この方法はバイアス冷却チャンネルまたはランプ冷却チャンネルが、孔開けの間にそれることおよび試料ブロックの底表面110を貫くことを防止するか、あるいは他の冷却チャンネルに対する相対的位置の変動を防止する。このような誤った位置は、局所的ゾーンの「局所的バランス」または「局所的対称性」を覆すことによって、望ましくない温度勾配を引き起こすことがある。これらの概念は以下で説明するが、それらを実行する概念および構造は、異なる試料ウェルの間のように過度の温度誤差をつくり難いで、96までの試料の急速な温度サイクリングを達成するために重要であることを理解すべきである。

【0058】バイアス冷却チャンネル91～99は、好みの実施態様においてシリコーンゴムでライニングして、バイアス冷却チャンネルの壁を横切る熱伝導を減少する。バイアス冷却チャンネル中の壁を横切る熱伝導を低下して、マルチゾーンヒータ156をオフにしそして試料ブロック12からの熱損失が主としてバイアス冷却チャンネルを通るとき、試料ブロック12の急速過ぎる温度変化を防止することは好みの。これは、試料ブロックの温度が所望の標的インキュベーション温度よりわずかに下り、そして制御システムが試料ブロックの温度をユーザが特定したインキュベーション温度に下げて戻すとき、制御プロセスが実施される間の場合である。この場合における冷却速度が速すぎると、制御システムのサーボフィードバックループが応答することができる前に、所望のインキュベーションのオーバーシュートを引き起こすことがあるが、「制御されたオーバーシュート」は下に記載するように使用されるであろう。ブロック温度のサーボフィードバックループは刺激に対する反応について時間定数を有するので、加熱および冷却の量および試料ブロックの生ずる温度変化速度を制御し、こうして制御システムが温度誤差に対して応答できるより速い速度で、試料ブロックの温度を変化させないことによって、オーバーシュートを最小にすることが望ましい。

【0059】好みの実施態様において、バイアス冷却チャンネルは直径4mmであり、そしてシリコーンゴムの管は1mmの内径および1.5mmの壁厚さを有する。これは、ブロックが操作範囲の高い端、すなわち、約100°Cであるとき、ほぼ0.2°C/秒のバイアス冷却速度を与える。そして試料ブロック12が操作範囲の下端の温度であるとき、ほぼ0.1°C/秒のバイアス冷却速度を与える。図1における冷却液制御システム24は、バイアス冷却チャンネルにおいて、ランプ冷却チャンネル100～107を通る冷却液の流速のほぼ1/20～1/30倍の冷却液の流速を生ずる。バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルは同一大きさ、すなわち、4mmの直径であり、そして試料ブロック12を通して完

全に延びている。

【0060】バイアス冷却チャンネルは、その端にフックをもつ剛性なワイヤをバイアス冷却チャンネルの中に挿入しそしてそれを4mmよりわずかに大きい外径を有するシリコーンゴム管の端の孔を通してフッキングすることによってライニングされる。次いで、ワイヤ中のフッキングをシリコーンゴム管中の孔を通して配置し、そしてシリコーンゴム管をバイアス冷却チャンネルを通して引き、そして試料ブロック12の端表面と同一平面に切る。

【0061】ねじ孔108～114を使用して、冷却液のマニホールドを試料ブロック12の各側にボルト止めする。ブロックの各端にボルト止めされた冷却液のマニホールドが存在する。これらの2つのマニホールドを図1において冷却チャンネル26, 28, 30および31に連結され、そしてマニホールドと試料ブロックの金属との間に介在するガスケット材料(図示せず)により試料ブロック12に添付されている。このガスケットは冷却液の漏れを防止し、そして試料ブロック12とヒートシンクを表すマニホールドとの間の熱伝導を制限する。前述の目的を実行する任意のガスケット材料は本発明の実施のために十分である。

【0062】みぞ78の位置に対するバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの位置は、図6の断面図において最もよく見られる。試料ウェルの位置に対するバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの位置は、図8の断面図において最もよく見られる。バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルは、一般に、試料ウェルの先端の位置の間に介在する。さらに、図8から明らかのように、バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネル、例えば、チャンネル106および97は、1または2以上の試料ウェルの壁の危険な浸透なしに、ポジティブのz方向に非常に速く動くことができない。同様に、冷却チャンネルは、試料ブロック12の底表面116を浸透する可能性をつくらないで、ネガティブのz方向に非常に速く動くことができない。明瞭のため、バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの位置は、試料ウェルおよび他の構造の位置に関して、図2に隠れた線で示されていない。しかしながら、試料ウェルのすべてのカラムの間にバイアス冷却チャンネルまたはランプ冷却チャンネルが存在する。

【0063】図2を参照すると、孔118, 119, 120および121にねじ山を形成し、そしてこれらの孔を使用して、試料ブロック12の中に形成する種々の孔およびみぞを機械加工するために使用する機械に試料ブロック12を取り付ける。図2、図4および図5において、孔124, 125, 126および127を使用して、下にさらに詳細に記載する図9に示す支持プラケットに試料ブロック12を取り付ける。はがねのボルトは

この支持プラケットを通してねじ孔124～127の中に延びて、試料ブロック12の機械的支持を提供する。これらのはがねのボルトは、また、ヒートシンクまたは熱源を表し、これらは熱的質量を試料ブロック12に添加し、そして試料ブロック12を取り囲む環境との間の熱的エネルギーの移動のための追加の通路を提供する。これらの支持ピンおよびマニホールドは、これらの周辺構造体に対して前後して移動する熱的エネルギーがこれらの試料の温度に影響を与えるのを防止するためのガードバンドのための必要性をつくるとき、2つの重要な因子である。

【0064】図5を参照すると、孔128、130および132は集積回路の温度センサー（図示せず）のための取り付け孔であり、この温度センサーは孔128を通して試料ブロックの中に挿入され、そしてねじ孔130および132へ締結されるボルトによりそれに固定される。孔128の浸透程度およびみぞ78および試料ウェルの隣接する列の相対的位置は、図2に最もよく示されている。

【0065】図2を参照すると、孔134～143はスピルカラー147を取り付けるために使用する取り付け孔である（図示せず）。このスピルカラー147は図19に示されており、図19は加熱された定盤14、すべりカバー316およびレッドスクリューアセンブリ312の構造を詳細に示す。スピルカラーの目的は、試料管からこぼれた液体が腐食を引き起こす絶縁のケーシングの内側に入るのを防止することである。

【0066】図9を参照すると、試料ブロック12のための支持システムおよびマルチゾーンヒータ156の形状の断面図が示されている。試料ブロック12は4つのボルトにより支持され、それらのうちのボルト146は典型的である。これらの4つのボルトははがね支持プラケット148の直立部材を通過する。2つの大きいコイルばね150および152は、支持プラケット148の水平部分とはがね圧力板154との間で圧縮されている。ばね150および152は、試料ブロック12の底にフィルムヒータ156を圧縮するポジティブ作用方向にほぼ300ポンド／平方インチを供給するために十分に圧縮されている。この3層のフィルムヒータは、マルチゾーンフィルムヒータ156、シリコーンゴムのパッド158およびエポキシ樹脂フォームの層160から構成されている。好ましい実施態様において、フィルムヒータ156は3つの別々の制御可能なゾーンを有する。フィルムヒータの目的は、図1においてCPU20の制御下に試料ブロック12に熱を供給することである。シリコーンゴムのパッドの目的は、フィルムヒータ層156から下の構造体への熱伝導を低下することである。これらの下の構造体はヒートシンクおよび熱源として働き、それらの間で望ましくない熱エネルギーを試料ブロック12から出入りさせることができる。シリコ-

ンゴムのパッド158は、いくつかのフィルムヒータはニクロム線を有しそして完全に平らであることができるるので、フィルムヒータ156中の表面の不規則性を補償するという追加の機能を有する。

【0067】はがね板154およびエポキシ樹脂フォーム160の目的は、ばね150および152からの力をシリコーンゴムのパッド158およびマルチゾーンのフィルムヒータ156に伝えて、フィルムヒータを出来るだけ同一平面の嵌合で試料ブロックの底表面に圧縮する

10 ことである。エポキシ樹脂フォームは剛性であって、ばねの力の下に破壊しないが、すぐれた絶縁体でありそして低い熱的質量を有する、すなわち、密でない構造であるべきである。1つの実施態様において、フォーム160は商標ECKOフォームで製造されている。他の実施態様において、他の構造体をシリコーンゴム層158および／またはエポキシ樹脂層160の代わりに使用することができる。例えば、剛性のハネカム構造体、例えば、航空機の構成に使用する構造体を圧力板154とフィルムヒータ156との間にそれらの間に絶縁

20 層を配置させて配置することができる。層158および160のためにどんな構造体を使用しても、構造体は試料ブロック12が加熱されている間にそのブロックから実質的な量の熱を吸収してはならず、そして試料ブロック12が冷却されている間に、そのブロックに実質的な量を移動させてはならない。しかしながら、その取り囲む構造体からのブロックの完全な隔離は事実上不可能である。試料ブロック12と接触して、試料ブロックをその環境から出来るだけ多く隔離して、そのブロックの熱的質量を最小しきつ試料ブロックおよびその中に貯蔵された試料混合物の急速な温度変化を可能とする、別の構造体を設計するための努力をすべきである。

【0068】試料ブロックの温度の正確な制御は、図9におけるマルチゾーンフィルムヒータ156により試料ブロックへ供給される熱の量を制御することによって、図1においてCPU20により達成される。フィルムヒータはパルス幅の変調の変更された形を使用して推進される。第1に、電力ラインからの120ボルトの波形を整流して、同一極性のハーフサイクルのみを保存する。

次いで、各ハーフサイクルの部分をフィルムヒータの適当なゾーンにゲートし、フィルムヒータの種々のゾーンへ加えられる各ハーフサイクルの百分率はCPU20により制御される。

【0069】図10はフィルムヒータ156についての電力制御の概念の1つの実施態様を示す。図10は供給ライン電圧の電圧波形の線図である。ネガティブハーフサイクル162を排除する整流が起こる。ポジティブハーフサイクルのみが残り、そのハーフサイクル164は典型的である。次いで、CPU20およびその関連する周辺電子回路は、フィルムヒータ156の種々のゾーン

30 へ加えられる各ハーフサイクルの部分を、各ゾーンにつ

40 いて各ゾーンにゲートし、フィルムヒータの種々のゾーンへ加えられる各ハーフサイクルの百分率はCPU20により制御される。

【0070】図10はフィルムヒータ156についての電力制御の概念の1つの実施態様を示す。図10は供給

40 ライン電圧の電圧波形の線図である。ネガティブハーフサイクル162を排除する整流が起こる。ポジティブハーフサイクルのみが残り、そのハーフサイクル164は典型的である。次いで、CPU20およびその関連する周辺電子回路は、フィルムヒータ156の種々のゾーン

50 へ加えられる各ハーフサイクルの部分を、各ゾーンにつ

いて下に記載する方程式に基づいて各ゾーンについて計算した電力レベルに従い、加える各ハーフサイクルの部分を選択することによって制御する。すなわち、分割線 166 は時間軸に沿って前後に動いて、各ゾーンについて特別の方程式において関係づけられる因子の数に基づいて、フィルムヒータへの電力の量を制御する。ポジティブのハーフサイクル 164 の下の斜線区域は、分割線 166 の示した位置についてフィルムヒータ 156 へ加えられた量を表す。分割線 166 が右に動くとき、より多くの電力がフィルムヒータへ加えられ、そして試料ブロック 12 はより熱くなる。分割線が時間軸に沿って左に動くとき、斜線区域はより小さくなり、そしてより少ない電力がフィルムヒータに加えられる。CPU 20 およびその関連するソフトウェアおよび周辺回路がブロック 12 の温度を制御する方法を、より詳細に下に記載する。

【0070】フィルムヒータへ供給される電力の量は、0から600ワットに連続的変化することができる。他の実施態様において、フィルムヒータ 156 へ供給される電力の量は、他の機構、例えば、DC フィルムヒータを通る電流またはそれに加えられる電圧等のコンピュータ制御を使用して、あるいは下に記載する交差スイッチ機構により制御することができる。

【0071】他の実施態様において、試料ブロック 12 の加熱制御は、試料ブロック 12 の金属を通して形成される加熱制御チャンネルを通してゲートされる、熱い気体または液体の流速および/または温度について実施することができる。もちろん、このような他の実施態様において、ブロック中の試料ウェルの数を減少しなくてはならないであろう。なぜなら、図 2 ~ 図 8 に示す試料ブロック 12 中の追加の加熱チャンネルのための余地が存在しないからである。このような他の実施態様は、例えば、すべての他のウェルを除去して試料ブロック中の加熱チャンネルのための余地をつくる場合、96 ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットと適合性であることができる。これは適合性をこのようなマイクロタイタープレートの寸法に関してのみ提供し、そして 96 の異なる試料の同時の処理に関して提供しない。これらの他の実施態様において局所的バランスおよび局所的対称性を保存するために注意しなくてはならない。

【0072】ここに記載する実施態様において、フィルムヒータを経てブロックに供給できる最大の電力は 1100 ワットである。この制限はブロック/ヒータのインターフェースの熱伝導性から生ずる。実験において、フィルムヒータ 156 へのほぼ 1100 ワットより多い供給は装置の自己破壊をしばしば引き起こすことが発見された。

【0073】ブロック温度を標的のインキュベーション温度またはその付近への加熱または冷却のための典型的な電力は、±50 ワットの範囲内である。図 11 を参照

すると、典型的な PCR プロトコルの時間対温度のプロットが示されている。ブロック温度の大きい下向きの変化は、冷却された冷却液をランプ冷却チャンネルを通してゲートすると同時に図 1 において温度センサー 21 により試料ブロックの温度をモニターすることによって達成される。典型的には、これらの下向きの温度変化は、ランプの間に変性インキュベーション 170 後ハイブリダイゼーションインキュベーション 172 の温度に対して実施される。典型的には、ユーザは、ランプのレグおよびインキュベーションのレグの間の円形の交差により記号化されたチェックポイントの温度/時間の平面上の位置を CPU 20 に対して記載するために、1つの方法または他の方法において、温度および時間を定めることによってプロトコルを特定しなくてはならない。一般に、インキュベーションのレグは参照数字 170, 172 および 174 でマークし、そしてランプは参照番号 176, 178 および 180 でマークする。一般に、インキュベーションの間隔は単一の温度において実施されるが、別の実施態様において、それらは含まれる PCR サイクルの特定の部分を実施するために許容されうる温度範囲内の異なる温度に対して、段階的であるか、あるいは連続的に勾配をなすことができる。すなわち、変性インキュベーション 170 は図 11 に示すように 1 つの温度において実施する必要はないが、変性のために許容されうる温度範囲内の複数の異なる温度のいずれにおいても実施することができる。ある実施態様において、ユーザはランプセグメント 176, 178 および 180 の長さを特定することができる。他の実施態様において、ユーザは各インキュベーション間隔の 1 または 2 以上の温度および期間のみを特定することができ、次いで計器は 1 つのインキュベーションの完結および他のインキュベーションの開始のときインキュベーション時間の間に出来るだけ急速に試料ブロックの温度を動かす。好みの実施態様において、ユーザは、また、各サイクルするための異なるか、あるいはすべてのサイクルについて自動的に増加する温度および/またはインキュベーション時間を有することができる。

【0074】95°C の変性インキュベーションから 35°C のハイブリダイゼーションインキュベーションへの転移の間のランプ冷却の平均電力は、典型的には 1 キロワットより大きい。これは、ブロック温度が操作範囲の高い端にあるとき、ほぼ 4~6°C/秒、そしてブロック温度が操作範囲の低い端であるとき、ほぼ 2°C/秒の試料ブロックの温度変化を生ずる。一般に、ランプ冷却のために出来るだけ高い冷却速度を有することが望ましい。

【0075】ランプ冷却の間に試料ブロックから非常に多くの熱が除去されるので、ランプ冷却チャンネルの 1 つの端から他の端への試料ブロックを横切る温度勾配が発生することがある。これを防止しつつこれらの型の温度勾配を最小とするために、ランプ冷却チャンネルは方

向的に交錯している。すなわち、図3において、ランプ冷却チャンネル100, 102, 104および106を通る冷却液の流れの方向は、これらのランプ冷却チャンネルの孔の内側においてxで記号化されたページの中に入る。交錯するランプ冷却チャンネル101, 103, 105および107中のランプ冷却の液体の流れは、これらのランプ冷却チャンネルの孔の中心における単一の点により記号化されたページの中から外に出る。ランプ冷却チャンネルを通るこの交錯+高い流速は、そうでなければ非交錯の流れのパターンまたはより低い流速を使用して起こることがある温度勾配を最小にする。なぜなら、チャンネルの熱い端と冷たい端との間の距離はより小さくなるからである。より遅い流速は移動の最初のインチなどにおけるブロックから取られる熱の大部分またはすべてを生じ、これはブロックの入力側はブロックの出力側より低い温度であるであろうことを意味する。高い流速はチャンネルに沿った温度勾配を最小にする。交錯は1つの方向に走るチャンネルの熱い端がチャンネルの冷たい端の間で「サンドイッチ」にされ、ここで流れが反対方向であることを意味する。これはチャンネルの長さより小さい距離である。こうして、温度勾配を排除するために熱が移動しなくてはならない距離が減少するので、温度勾配は減少される。これは、ランプチャンネルがある試料を異なって加熱するが、他の試料をそのように加熱しない時間を有する前に急速に排除しなくてはならないランプチャンネル中の冷却のために、形成する温度勾配を引き起こす。交錯しないと、試料ブロックの1つの側は他の側よりほぼ1°C熱いであろう。交錯は、ほぼ15秒より小さい時間を生ずる温度勾配を消散する。

【0076】ブロックに添加またはそれから除去される熱の量を推定するために、CPU20は図1における温度センサー21を使用してブロック温度を測定し、そして図1におけるバス54に連結された図46における温度センサー61により冷却液の温度を測定する。周囲空気の温度は、また、図1における温度センサー56により測定し、そしてバス52上でフィルムヒータに加えられる電力を制御する電力ラインは、また、測定される。試料ブロックから周囲へのおよび試料ブロックから冷却液への熱伝導は、システムの制御パラメータをセットするためインキュベーションプロセスの間になした測定の結果、CPU20へ知らされる。

【0077】試料の集団のすぐれた温度の均一性のために、ブロックは、一定温度において、正味の出入りする熱の流れをもつことができない。しかしながら、温度勾配は試料ブロック内で起こることがあり、熱いスポットからブロックの境界関係してゼロの正味の熱移動を有する冷たいスポットへの熱の局所的流れから生ずる。例えば、1つの端で加熱されそして他の端において冷却される材料のスラブは、ブロックの中への熱の流れがゼロで

ある場合、一定の平均温度にある。しかしながら、この場合において、有意の温度の不均一性、すなわち、温度勾配は、熱いへりから冷たいへりへの次のために、スラブ内で確立されることがある。ブロックのへりの加熱および冷却が停止されるとき、熱いへりから冷たいへりへの熱の流れはこの温度勾配を究極的に消散し、そしてブロックは熱の流れの開始のときの熱い温度と冷たい温度との間の平均である均一な温度に全体を通じて到達する。

【0078】長さLの断面区域Aのスラブは均一な熱伝導性を有しそして、熱源から熱の入る束 Q_{in} はヒートシンクへの熱の出る流れ Q_{out} と合致するので、スラブが一定の平均温度に保持される場合、熱の流れから生ずる定常状態の温度は、次の通りである：

$$(1) \Delta T = (Q_{in} \cdot L) / (A \cdot K)$$

ここで、

ΔT = 温度勾配、

L = 热的通路の長さ、

A = 热的通路の面積、

K = 通路を通過する熱伝導性、である。

【0079】一般に、均一な熱伝導性の物質内で、温度勾配は熱の流れ/単位面積に比例して確立される。こうして、熱の流れおよび温度の不均一性は緊密に連結される。実際には、出入りする熱の流れが存在させないで試料ブロックの温度を制御することは不可能である。冷たいバイアス制御の冷却は、ブロック温度を安定な値に維持するためにバイアス冷却チャンネルを通して流れる冷却液により除去される熱をバランスさせるために、ストリップヒータからの多少の熱の流入を必要とする。これらの条件下に均一な試料ブロックの温度に対して重要なことは、熱源とヒートシンクの「局所的バランス」および「局所的対称性」を静力学的にかつ動力学的に有し、そして熱いスポットから冷たいスポットへの熱の流れが短い距離にわたって起こるように配置された、形状寸法である。

【0080】簡単に述べると、「静止の局所的バランス」の概念は、合計の熱入力が合計の熱出力に等しい一定温度のブロックにおいて、明確な局所的領域内で、すべての熱源がヒートシンクによりブロックを出入りする熱の流れで完全にバランスされるように熱源およびヒートシンクが配置されていることを意味する。したがって、各局所的領域は、隔離されると、一定温度に維持されるであろう。

【0081】「静止の局所的対称性」の概念は、局所的領域内で一定温度について、熱源の質量中心がヒートシンクの質量中心と一致することを意味する。そうでない場合、各局所的領域内で、各局所的領域を横切る温度勾配は存在することができ、これは隣接する局所的領域における温度勾配を添加し、これにより单一の局所的領域の大さきの2倍である勾配を試料ブロックを横切って引

き起こす。なぜなら、各局所的領域内の局所的バランスを通してさえ局所的対称性の欠如が存在するからである。局所的バランスおよび局所的対称性の概念は、試料ブロックの温度が、例えば、インキュベーション間隔の間に、一定レベルに維持されている、静止の温度バランスの達成に対して重要である。

【0082】試料ブロック中の急速な温度変化が起こっている動力学的場合について、各局所的領域の熱的質量または容量は重要になる。なぜなら、各局所的領域にその温度を変化するために流入しなくてはならない熱の量はその領域の熱的質量に比例するからである。したがって、静止の局所的バランスの概念は、局所的領域が合計の熱源およびヒートシンクの $x\%$ を含む場合、それはまた「動力学的局所的バランス」が存在するために熱的質量の $x\%$ を含まなくてはならないことを必要とすることによって、動力学的場合に拡張することができる。同様に、「動力学的局所的対称性」は、熱容量の質量中心が動力学的熱源およびヒートシンクの質量中心と一致することを必要とする。簡単な用語でこれが意味することは、試料ブロックの熱的質量がその金属であり、そして各局所的ゾーン内の金属の合計の質量が同一であるように、試料ブロックの機械加工が対称であるかつバランスされることである。さらに、各局所的ゾーンにおける金属の質量中心は動力学的熱源およびヒートシンクの質量中心と一致すべきである。こうして、マルチゾーンヒータの質量中心、すなわち、その幾何学的中心、およびランプ冷却チャンネルの幾何学的中心は一致しなくてはならない。図2～図9の研究から、静力学的および動力学的の局所的バランスおよび局所的対称性の両者が試料ブロック12の中に存在することは、後述の説明から理解されるであろう。

【0083】図12は、本発明の教示に従う試料ブロック12の設計のための並列する2つの局所的領域を示す。図12において、2つの局所的領域200および202の境界はダッシュ線204、206および208でマークされている。図12は、ガードバンドの中に存在しない各局所的領域が、次の構成成分から構成されていることを示す。すなわち、試料ウェルの2つの列；ヒータの合計の面積の1/8倍であるフォイルヒータ156の部分；1つのランプ冷却チャンネル、例えば、ランプ冷却チャンネル210および212；および、1つのバイアス冷却チャンネルである。局所的対称性を保存するために、各局所的領域はそのランプ冷却チャンネル上に中心が存在し、そして各境界においてバイアス冷却チャンネル上で1/2を有する。例えば、局所的領域200はランプ冷却チャンネル210の上に中心を有し、そしてバイアス冷却チャンネル214および216は、それぞれ、局所的領域の境界204および206により切られている。こうして、ランプ冷却チャンネルの質量中心（その中心）は、バイアス冷却チャンネルの質量中心

（局所的領域の中心）および各局所的領域に連結するフィルムヒータ部分の質量中心と一致する。CPU20がフィルムヒータ156を推進して、ランプ冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルにより除去されている熱エネルギーの量に等しい熱エネルギーの量を入力するとき、静力学的局所的バランスは存在するであろう。96の試料混合物が存在するブロックの中心部分の各局所的領域は、全体の試料ブロックの合計の熱的質量のほぼ1/8を含有し、ランプ冷却チャンネルの合計の数の1/8を含有しそしてバイアス冷却チャンネルの合計の数の1/8を含有するので、各局所的領域について動力学的局所的バランスが存在する。各局所的領域の金属の質量中心は、水平的に、局所的領域の下に横たわるフィルムヒータ部分の中心；ランプ冷却チャンネルの中心；および、2つの半分のバイアス冷却チャンネルの質量中心；と一致するので、動力学的局所的対称性は各線形回帰について存在する。

【0084】静力学的および動力学的の局所的バランスおよび局所的対称性として特徴づけられるこれらの物理学的性質により、試料ブロックは、集団中のすべての試料を、先行技術のサーマルサイクラーより非常にいっそく均一に加熱および冷却する。図2を参照すると、局所的領域の境界の平面図が鎖線217～225により示されている。図2を見ると明らかのように、96の試料ウェルの中央領域は境界218～224により境界される6つの隣接する領域に分割されている。さらに、2つのガードバンドおよび局所的領域が各へりに添加されている。最もネガティブの x 座標を有するへりの局所的領域

（局所的領域は時にはまた局所的ゾーンと呼ぶ）は、境界線217および218により境界されている。最もポジティブの x 座標を有するへりの局所的領域は、境界線224および225により境界されている。各局所的領域は試料ウェルのカラムを含有しないが、ウェルのカラムシミュレーションするみぞ78を含有することが認められる。みぞ78の深さおよび幅は、ウェルのカラムと同一の金属質量を除去し、これにより動力学的局所的対称性を多少保存ように設計されている。したがって、へりの局所的ゾーン試料ブロックの中央部分における6つの局所的ゾーンと熱的質量が異なる（それらは、また、外部の接続、例えば、マニホールドおよび支持ピンにより追加の熱的質量を有する）。この差は、へりの局所的ゾーンまたはガードバンドを前記マルチゾーンヒータの別々に制御可能なゾーンで加熱し、こうしてブロックの中央ゾーンより多くのエネルギーをガードバンドの中に入れるができるようにして、説明される。

【0085】ブロックの各へりにおける局所的領域は、6つの中央に位置する局所的領域の熱的性質に近似するが、それと正確に合致しない。へりの局所的領域は、試料ブロック12の周辺の回りを走るガードバンドを完結するので、「ガードバンド」領域と呼ぶ。このガードバ

ンドの目的は、試料ブロック12に機械的に添付しなくてはならない支持ピン、マニホールド、ドリップカラーおよび他の装置のようなものによって、ブロックへの機械的接続部の中に本来埋め込まれる、制御されないヒータシンクおよび熱源から、96の試料ウェルを含有する試料ブロックの中央部分をある程度熱的に絶縁することである。例えば、図2において、試料ブロックのへりの表面228および230は、ランプ冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルを出入りする冷却液を運ぶプラスチックのマニホールドを取り付けて有する。へり228および230に沿ったガードバンドは、へり228および230に対して並列でありかつそれに最も近くに存在するスロット78の部分から成る。みぞ78の深さは、みぞの底がバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの周辺に、それらを実際に交差させないで可能であるように、密接するような深さである。この深さと結合するみぞ78の幅は、図2における点82および232の間のスロット78により除去される金属の体積が、試料ウェル234で出発そして試料ウェル83で終わる試料ウェルの隣接する列により除去される金属の体積にほぼ等しいような幅である。また、試料ウェルの周期的パターンが各方向においてウェルの1つの列またはカラムにより延長される場合、このような試料ウェルの追加の列が存在する所に、ブロックの回りのスロット78はほぼ位置する。

【0086】支持接続が試料ブロックについて作られているへり250および252に沿って、ガードバンドの局所的領域は、スロット78の部分に加えて、全長のいくつかの冷却チャンネルを含有する。図3を参照すると、これらは次のものを含む：隣接する局所的領域の隣接する1/2のバイアス冷却チャンネルとともに没入して全体のバイアス冷却チャンネルを形成するバイアス冷却チャンネルの1/2（例えば、92）；ランプ冷却チャンネル（例えば、100）；および全体のバイアス冷却チャンネル（例えば、91）。へり250におけるへりの局所的領域について、これらの冷却チャンネルは107, 198および99である。

【0087】ガードバンドにおける全体のバイアス冷却チャンネルは、ブロックのへりから内方にわずかに変位している。これらの全体のバイアス冷却チャンネルを使用する理由は、「半分の」冷却チャンネルの構成が実際的ではないことである。バイアス冷却チャンネルはこのような厚い壁をもつゴムのライニングを必要とするので、「半分の」バイアス冷却チャンネルのライニングを通る孔を信頼性をもって開いて保持することは困難であろう。へりの局所的領域におけるこの非対称性はへりのガードバンドの局所的領域から冷却液へ熱の小さい過剰の損失を引き起すが、それは試料ウェルを含有する試料ブロックの中央領域から十分に離れているので、試料温度の不均一性へのその寄与は小さい。また、この小さ

い非対称性の温度の影響を予測可能であるので、この作用は各ガードバンドの下でマルチゾーンヒータシステムの別々に制御可能なゾーンを使用することによってさらに最小にすることができる。

【0088】図13を参照すると、図9におけるフィルムヒータ層156内に3つの別々に制御されるゾーンが存在する。これらの別々に制御されるゾーンは、支持プラケット148に連結された試料ブロック12の露出したへりにガードバンドの下に位置する、へりのヒータのゾーンを含む。冷却液のマニホールドに取り付けられたへり228および230のためのガードバンドの下に位置する、別々に制御されるマニホールドのヒータゾーンが、また、存在する。最後に、試料ウェルの下に横たわる中央ヒータゾーンが存在する。これらのゾーンの各々に加えられる電力は、CPU20および制御ソフトウェアにより別々に制御される。

【0089】フィルムヒータ156は、金属合金、例えば、インコネル（登録商標）の薄い板をエッチングすることによって形成された、導電体のパターンから構成される。選択した金属合金は、高い電気抵抗およびすぐれた耐熱性を有すべきである。そのようにエッチングされた導電体のパターンは、電気絶縁性ポリマー材料、例えば、カプトン（登録商標）の薄いシートの間に結合される。電気抵抗加熱要素を絶縁するためにどの材料を使用しても、この材料は高温に対する抵抗、高い静電強さおよびすぐれた機械的安定性をもたなくてはならない。

【0090】フィルムヒータの中央ゾーン254は、ガードバンドの内側の試料ブロックの中央部分とほぼ同一の寸法を有する。中央部分254は均一な電力密度を試料ウェル区域に供給する。へりヒータ領域256および258は、へりガードバンドとほぼ同一の幅を有するが、それほど長くない。

【0091】マニホールドのヒータ領域260および262は、図2においてへり228および230についてのガードバンドの下に横たわる。マニホールドのヒータゾーン260および262は、電気的に一緒に接続して、1つの別々に制御可能なヒータゾーンを形成する。また、されたヒータ区画256および258は電気的に一緒に連結して、第2の別々に制御可能なヒータゾーンを形成する。第3の別々に制御可能なヒータゾーンは中央区画254である。これらの3つの別々に制御可能なヒータゾーンの各々は別の電気リード線を有し、そして各ゾーンは別のマイクロプロセッサまたは好ましい実施態様において実施されるような共有されるCPU20で実行することができる、別の制御アルゴリズムにより制御される。

【0092】へりヒータゾーン256および258は、支持プラケットへの熱損失を補償するために推進される。この熱損失は、試料ブロック12とそれを取り囲む周囲空気との間の温度差に対して比例する。へりヒータ

31

ゾーン256および258は、また、試料ブロックからブロックの各へりにおける完全なバイアス冷却チャンネルへの過剰の熱損失を補償する。この熱損失は、試料ブロック12とこれらのバイアス冷却チャンネルを通して流れる冷却液との間の温度差に対して比例する。

【0093】マニホールドのヒータ区画260および262は、また、試料ブロック12のへりに取り付けられた、図13におけるプラスチックの冷却液マニホールド266および268への熱損失を補償するために推進される。マニホールドのヒータ区画260および262のための電力は、試料ブロックと冷却液との間の温度差に主として、そして試料ブロックと周囲空気との間の温度差に少ない程度に、比例する熱損失を補償する。

【0094】実際的理由で、中央のヒータ区画254の上に横たわる試料ウェルを包含する局所的領域の熱的質量と、ガードバンドの局所的領域の熱的質量と合致させることは不可能である。例えば、プラスチックの冷却液マニホールド266および268はガードバンドから離れる方向に熱を伝えるばかりでなく、かつまたある量の熱的質量をそれらが取り付けられたガードバンドの局所的領域に添加する。その結果、急速なブロック温度が変化する間に、ガードバンドの温度の上下の速度は試料ウェルの局所的領域のそれに正確に合致しない。これはガードバンドと試料ウェルとの間の動力学的温度勾配を発生し、これは大きくさせると、許容されうるより長い時間持続することがあるであろう。この温度勾配の作用は、ブロック温度の変化速度に対しておおよそ比例し、そしてブロック温度の変化速度に対して比例する速度で各ガードバンドの局所的ゾーンから熱を添加または除去することによって最小にされる。

【0095】ガードバンドのゾーンについての比例定数は、システムの設計の比較的安定な性質であり、そしてプロトタイプについての加工の測定値により決定される。比例定数についての値は、方程式(3)～(5)の項の定義に関して下に記載する。これらの方程式は、別の実施態様における、それぞれ、マニホールドヒータゾーンに加えられる電力の量、ヒータゾーンのへりおよび中央ゾーンを決定する。好ましい実施態様において使用する方程式は、ソフトウェア(方程式(4.6)～(4.8)、区域により分布された電力)の説明において下に記載する。

$$(3) P_m = A_m P + K_{M1} (T_{BLK} - T_{AMB}) + K_{M2} (T_{BLK} - T_{COOL}) + K_{M3} (d t_{BLK} / d t)$$

ここで、

P_m = マニホールドヒータゾーン260および262に供給された電力、

A_m = マニホールドヒータゾーンの領域

P = ブロック温度をPCR熱サイクルのプロトコルにおいて任意の特定の時間において所望の温度に止まらせるか、あるいはそれに動かせるために必要な電力、

32

K_{M1} = 0ワット/°Kに等しい、マニホールドを通る周囲への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{M2} = 0.4ワット/°Kに等しい、冷却液への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{M3} = 6.6ワット一秒/°Kに等しい、プラスチックのマニホールドなどにより引き起こされるマニホールドのへりのガードバンドの追加の熱的質量を補償するための余分の電力を提供する実験的に決定した比例定数、

T_{BLK} = 試料ブロック12の温度、

T_{AMB} = 周囲空気の温度、

T_{COOL} = 冷却液の温度、

$d t_{BLK} / d t$ = 試料ブロックの温度変化/単位時間、

$$(4) P_E = A_E P + K_{E1} (T_{BLK} - T_{AMB}) + K_{E2} (T_{BLK} - T_{COOL}) + K_{M3} (d t_{BLK} / d t)$$

ここで、

P_E = へりヒータゾーンに加えるべき電力、

A_E = へりヒータゾーンの領域、

K_{E1} = 0.5ワット/°Kに等しい、マニホールドを通る周囲への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{E2} = 0.15ワット/°Kに等しい、冷却液への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{E3} = 15.4ワット一秒/°Kに等しい、支持ピンおよびプラケット、温度センサーなどへの試料ブロック12の取り付けにより引き起こされる露出されたガードバンドの追加の熱的質量を補償するための余分の電力を提供する実験的に決定した比例定数、

$$(5) P_c = A_c P$$

ここで、

P_c = マルチゾーンヒータの中央ゾーン254に加えるべき電力、

A_c = 中央ゾーン254の領域。

【0096】方程式(3)～(5)の各々において、電力の項Pは変数であり、これは図1においてCPU20により実行される制御アルゴリズムの部分により計算され、この部分はユーザが定めた設定点を読みそして、次に、ユーザが記憶装置に記憶させた時間および温度の設定点により定められるPCR温度のプロトコルを実行するため適切な温度に試料ブロック温度を止まらせるか、あるいはそれにせざるために何を実施するかを決定する。設定点を読みそして電力密度を計算する方法は、下に詳細に記載する。

【0097】図1のCPU20により実行される制御アルゴリズムは、図1および図9において温度センサー21および図1においてバス52を経て、試料ブロックの温度を感知する。この温度を異ならせて、試料ブロック12の温度変化速度を推進する。次いで、CPUは図1において温度センサー56を経て周囲空気の温度を測定し、そして図46に示す冷却液制御システム24中の温

度センサー61を経て冷却液の温度を測定する。次いで、CPU20は実行されているPCRプロトコルの特定のセグメントに相当する電力ファクターを計算し、そして3つの計算を方程式(3)、(4)および(5)に従い、すべての測定した温度、比例定数(これらは持久記憶装置に記憶される)、制御プログラムおよび種々のヒータゾーンの区域の特定の相互作用についての電力ファクターP(これらは持久記憶装置に記憶される)を差し込むことによってなされる。電力ファクターは、ブロック温度をその電流レベルから設定点を経てユーザが特定した温度レベルに動かすために必要な合計の電力である。加熱および冷却を制御するためにCPUが実施する計算についてのさらに詳細は、制御ソフトウェア「PIDタスク」の説明において下に記載する。

【0098】ヒータ156の3つのゾーンの各に加えるべき要求される電力を計算した後、いくつかの実施態様において各ゾーンへ加えるべき入力電力の各ハーフサイクルの比率に関する、他の計算を行う。下に記載する好ましい実施態様において、計算のモードは、200ミリ秒の試料の期間の間に起こるハーフサイクルの合計の数のどれだけ多くのハーフサイクルを各ゾーンに加えるべきかである。このプロセスは、図47および図48、および制御ソフトウェアの「PIDタスク」の説明に関して下に記載する。図10に示す別の実施態様において、コンピュータは各ゾーンについて図10における分割線166の位置を計算する。この計算を実施した後、適当な制御信号を発生して、マルチゾーンヒータ156について電力供給を適当なスイッチさせて、各について計算した量の電力を各ゾーンに加えるようにする。

【0099】他の実施態様において、全体の試料ブロックに均一な電力密度を供給する単一のフィルムヒータ、およびガードバンドについて個々に1つのみのゾーンをもつ1または2つのマルチゾーンヒータを使用して、マルチゾーンヒータを実行することができる。これらの追加のヒータを、全体の試料ブロックをカバーする単一のフィルムヒータの上に重ねる。このような実施態様において、ガードバンドの損失の構成に必要な電力のみを追加のヒータゾーンに加える。

【0100】方程式(3)～(5)における電力ファクターPは、ユーザが特定した設定点およびランプ時間に基づくPCR温度プロトコル上の種々の点についてCPU20により計算される。しかしながら、前述のゾーンヒータの最大の電力供給能力に基づいて制限が付与される。方程式(3)～(5)中の比例定数は、すぐれた温度の均一性のためのガードバンドにおける過剰の熱損失を適切に補償するために、適切にセットしなくてはならない。

【0101】図17を参照すると、ブロック温度の段階的変化に応答して、試料ブロックの温度を実質的に低い温度からほぼ94℃の変性インキュベーションの標的温

度に向けて上昇させる、複数の異なる試料について計算した試料温度の間の差のグラフが示されている。図17は、マルチゾーンヒータ156が方程式(3)～(5)について項の定義において前述の比例定数を使用して適切に管理されるとき、計算した試料液体の温度を示す。図17のグラフを誘導するために使用した種々のウェルは、単一の文字および数の組み合わせがその上に示されている。図2を示す8×12のウェル列は、文字を付したカラムおよび番号を付した列によりコード化されている。こうして、例えば、試料ウェル90はまた試料ウェルA12と表示されているが、試料ウェル89はまた試料ウェルB12と表示されている。同様に、試料ウェル68はまた試料ウェルD6などと表示されている。ここに記載する温度勾配を排除に対する全体の熱的設計をもつたため、ウェル温度は互いのほぼ0.5℃範囲内にある温度に漸近的に落ちくことが理解されるであろう。

【0102】上の記載は試料ブロックの温度を均一に制御し、そして急速に変化させることができる方法を説明する。しかしながら、PCRプロセスにおいて、プログラミングすべきであるのは試料反応混合物の温度であって、ブロック温度ではない。本発明の教示に従う好ましい実施態様において、ユーザは試料液体それ自体についての標的温度の順序を特定し、そしてPCRプロセスにおける各段階についてこれらの標的温度の各々における試料液体のためのインキュベーション時間を特定する。次いで、CPU20は試料ブロックの温度を管理して試料の反応混合物を特定した標的インキュベーション温度にし、そして試料混合物をそれらの標的温度に特定した時間の間保持する。CPU20により実行されるユーザのインターフェースのコードは、このプロセスのすべての段階において、端末16のディスプレー上に現在の計算した試料液体の温度を表示する。

【0103】実際の測定した試料温度を表示する困難は、反応混合物の実際の温度の測定が温度測定プローブをその中に挿入することを必要とすることである。プローブの熱的質量はそれを配置したウェルの温度を有意に変更することがある。なぜなら、任意の特定のウェル中の試料の反応混合物はしばしば体積がわずかに100μlであるからである。こうして、反応混合物の中への温度プローブの単なる挿入は、反応混合物と付近の混合物との間に温度勾配を存在させことがある。温度センサーの余分な熱的質量はそれを浸漬した反応混合物の温度を、小さい熱的質量を有する他のウェル中の反応混合物の温度から、低下させて、誤差は温度を測定しようと単に試みることによって増幅を生ずることができる。

【0104】したがって、ここに記載する計器は既知の因子、例えば、ブロック温度の履歴およびシステムの熱的時間の定数から試料温度を計算し、そしてディスプレー上にこの試料温度を表示する。試料管を試料ウェルの中に少なくとも最小の限界力Fで下にプレスする場合、

好ましい実施態様において使用した試料管の大きさおよび形状およびほぼ $100\mu l$ の試料体積について、熱的に推進される対流は試料の反応混合物内で起こりそしてこのシステムは熱的に単一の時間一定の直線のシステムの熱的に類似して作用することが、ここに記載するシステムについて実験的に発見された。実験において、各試料管はほぼ 50 g の力ですぐれたウェルー壁一対一液体の熱伝導性についてウェル対ウェルについて押し下げなくてはならないことが示された。下に記載する加熱された定盤を各試料管上に約 100 g の力で押し下げるよう設計される。図15において力ベクトルFで記号化された、この最小の力は、試料ブロックにおける変形試料管と種々の試料ウェルとの間のような外部の寸法のわずかの差に無関係に、すべての試料管がすべりばめおよび同一平面の嵌合を各管について保証し、均一な熱伝導性を保証するために十分な力で押し下げされることを確保するために必要である。対応する試料ウェルにおいてゆるい嵌合のある試料管および緊密な嵌合のある試料管を有する設計は、熱伝導性が不均一であるために、すべての管について厳密な温度制御を達成することができないであろう。不十分なレベルの力Fは、図14に286で示すようにブロック温度の段階的変化に対する試料液体の温度の応答を生ずる。適切なレベルの力Fは282に示す温度の応答を生ずる。

【0105】本発明の教示に従い構成された装置により達成される結果は、各試料混合物の温度が新しい温度への転移の間に、あたかも試料が物理的よく混合されるように、挙動することである。事実、各試料混合物の中に引き起こされた対流のために、各試料管中の試料の反応混合物はより混合されている。驚くべき結果は、全体のシステムの熱的挙動が、ブロック温度と試料温度との間の差の減衰の半減期の約1.44倍である9秒の単一の時間定数をもつ、電気RC回路に似るということである。 50 ml の試料を充填したジェネアンプ(登録商標)の試料管は、約2.3秒の時間定数を有する。換言すると、試料ブロックの温度の上方の変化の間、反応混合物の温度は、電圧源Vの電圧出力の段階的変化に応答する、図16Dに示すような直列のRC電気回路中のコンデンサC上の電圧の上昇に似たように作用する。これらの概念を説明するために、ブロック温度の段階的変化に対する試料液体の異なる応答を示す図14および試料ウェル/試料管の組み合わせを通る断面を示す図15を参照する。実験において、試料液体276の体積がほぼ $100\mu l$ であり、そしてメニスカス278が試料ブロック12の上部表面280より下に位置するような寸法を管がもち、そして試料管を試料ウェルの中に押し下げる力Fが少なくとも 30 g であるとき、図15に示すシステムの熱的時間定数 τ (タウ)は 0.009 インチ (0.23 mm) (寸法A) の円錐形断面における試料管壁厚さについてほぼ9秒であることが発見された。ま

た、実験において、3つの条件について、熱的時間定数 τ は試料管の切頭体(円錐)についての壁厚さの0.01インチ毎について約1秒だけ変化であることが発見された。ここで述べる壁の薄い試料管は、20~100マイクロタイマーの試料を収容する際に、約5~14秒の熱時間定数を有することがわかっている。より厚い管壁は、試料ブロックの温度の変化と試料液体温度の生ずる変化との間の、より長い時間定数およびより多い遅れを生ずることが発見された。

10 【0106】数学的に、試料ブロックの温度変化に対する試料液体温度の熱的応答について式は、次の通りである:

$$(6) \quad T_{sample} = \Delta T (1 - e^{-t/\tau})$$

ここで、

T_{sample} =試料液体の温度、

ΔT =試料ブロック12の温度と試料液体の温度との間の温度差、

t =経過時間、

τ =システムの熱的時間定数、または試料ウェルの壁から試料液体への熱伝導性で割った試料の熱容量。

【0107】図14において、曲線282は、試料管を押し下げる力Fが十分に高いとき、試料ブロック温度の理論的段階的変化に対するこの指數の温度の応答を表す。試料ブロックの温度の段階的変化は関数284として示されており、時間 T_1 において開始する温度の急速な上昇が存在する。試料液体の温度は段階的変化に応答して指數的に増加し、そして最終の試料ブロック温度に漸近的に近付く方法に注意すべきである。簡単に前述したように、曲線286は、図15における下向きの配置力Fが試料管の円錐と試料ウェルの壁290との間の同一平面のすべりばめを引き起こすために不十分であるときの、熱的応答を表す。一般に、力Fが 30 g より小さい場合、曲線286の熱的応答は生ずるであろう。図15は明瞭のために試料管の円錐と試料ウェルの壁との間の空気の小さい層を示すが、空気はすぐれた絶縁体でありそしてこのシステムの熱的時間定数を実質的に増加するであろうので、これは所望の場合の正確に反対である。

【0108】熱的時間定数 τ は直列のRC回路におけるRC時間定数に類似し、ここでRは試料ウェルの壁と試料液体との間の熱的抵抗に相当し、そしてCは試料液体の熱容量である。熱的抵抗は、単位ワット一秒/ $^{\circ}\text{K}$ で表される熱伝導性の逆数である。図15において試料液体の中に示す対流の流れ292のために、反応混合物中のすべての場所で、試料液体は同一温度に非常に近くにあり、そしてブロックと試料との間の熱の流れは試料ブロックと試料の反応混合物との間の温度差に非常に近くに比例する。比例定数は、試料ブロック12中の試料ウェルの壁と反応混合物との間の熱伝導性である。異なる試料体積または異なる管、すなわち、異なる壁厚さまた

は材料について、熱的時間定数は異なる。このような場合において、ユーザはPCRプロトコルの彼の規格の一部分として、試料の体積または管の型を入れることができ、そして機械は試料温度を計算するとき使用する正しい熱的時間定数を自動的に見るであろう。ある実施態様において、ユーザは実際の時間定数を入れることができ、そして機械は試料温度の温度の計算にそれを使用するであろう。

【0109】熱的時間定数を出来るだけ小さく保持するために、試料管の円錐形壁は出来るだけ薄くあるべきである。好ましい実施態様において、これらの円錐形壁は0.009インチ(0.23mm)の厚さであるが、試料管の円筒形部分の壁は0.030(0.76mm)の厚さである。試料管の円錐形の形状は、試料混合物の体積に関して、試料ウェルの壁の金属との接触表面積を比較的大きくする。

【0110】試料管の成形は、4つの試料管が各射出で成形されるような、「常温ランナー」システムおよび4つのキャビティを使用して実施される。成形されたプラスチックは、残りのプラスチックが試料管の先端と試料ウェルの先端との間のキャビティ291の中に突起するように、試料管の円錐の先端で射出される。これは残部のプラスチックが管とウェルとの間の同一平面の嵌合を妨害するのを防止する。0.030インチ(0.76mm)の最小限界を残部のプラスチックの大きさに置く。

【0111】種々の実施態様において、各々が異なる利点をもつ3つの異なる等級のポリプロピレンを使用できる。好ましいポリプロピレンはヒモント(Himont)からのPD701である。なぜなら、それはオートクレーブ処理可能であるからである。しかしながら、このプラスチックは低いメルトイインデックスをもつて、成形が困難である。このプラスチックは35のメルトイインデックスおよび9の分子密度を有する。PD701はぱりを残す傾向があり、そして多少斑点がある品質の部分をつくるが、現在実施されているように円錐形区画の先端における代わりに、成形物の厚い壁の部分に射出成形した場合、よりよく働く。一般に、成形容易のために高いメルトイインデックスを有するが、すぐれた強さ維持しあつ260°Kにおけるオートクレーブ処理の熱ストレスの下でひび割れまたは割れを防止するために、また、高い分子密度を有することが望ましい。他のプラスチック、アメリカン・ヘスヒト(American Hoescht)からのPPW1780は、75のメルトイインデックスおよび9の分子密度を有し、そしてオートクレーブ処理可能である。ある実施態様において使用できる他のプラスチックはヒモント(Himont)444である。このプラスチックはオートクレーブ処理可能ではなく、そして他の方法で滅菌することが必要である。

【0112】他の実施態様において、溶融したプラスチックの温度が型のちょうどゲートまで制御される場合、

管は「ホットランナー」または「ホットノズル」システムを使用して成形できる。また、ある実施態様において、多数のゲートを使用できる。しかしながら、これらの技術のいずれも、充填の時間において、現在使用する「常温ランナー」システムよりすぐれることが実験的に証明された。

【0113】このシステムは単一の時間定数のRC回路のように熱的に作用するという事実は重要結果である。なぜなら、それは試料ブロックから試料の反応混合物への熱伝導性は既知でありかつ均一である場合、試料混合物の熱的応答は既知でありかつ均一であることを意味するからである。試料の反応混合物の熱容量は既知でありかつ一定であるので、試料の反応混合物の温度はプロック温度の経時的に測定した履歴のみを使用して正確に計算することができる。これは試料温度を測定する必要性を排除し、これにより無視できない熱的質量をもつプローブを試料ウェルの中に入れて試料温度を直接測定し、これによりプローピングしたウェル中の試料の熱的質量を変化させる誤差および困難を排除する。

【0114】この計算を行うアルゴリズムは、単一の温度定数の直列のRC電気回路のようにシステムの熱的挙動を作る。このモデルは、液体試料の熱容量/試料ブロックから試料の反応混合物への熱伝導性の比を使用する。試料の反応混合物の熱容量は、低い比熱×液体の質量に等しい。耐熱性は1/試料ブロックから試料管壁を通る液体反応混合物への熱伝導性に等しい。熱容量/熱伝導性の比は一致した単位で表すとき、それは時間の次元を有する。固定した試料体積および試料の組成、それらの両者はすべての試料ウェルにおいて同一である、および固定した熱伝導性について、その比は、また、すべての試料ウェルについて一定であり、そしてそのシステムの熱的時間定数と呼ばれる。それは、プロック温度の急激な段階的変化後、試料温度がプロック温度の36.8%以内に来るために要する時間である。

【0115】システムのインパルスの応答が知られている場合、フィルターまたは他の直線のシステムの出力応答を計算することができるということを支持する、電子回路の分析において使用される数学的理論が存在する。このインパルスの応答は、また、移動関数として知られている。直列RC回路の場合において、インパルスの応答は図16Aに示すように指数関数である。図16Aの応答を生ずるインパルスの刺激は図16Bに示されている通りである。このような直線のシステムの出力応答は入力信号のたたみ込みおよび重み関数を計算することによって決定することができ、ここで重み関数は時間を逆転したシステムのインパルス応答である、ことを前述の数学的理論的支持する。たたみ込みはそうでなければ連続加重平均として知られているが、たたみ込みは初期に小さい段階的大きさをもつ微分積分学における1つの概念であるが、連続加重平均明確な段階的大きさ、すな

わち、多数の試料を有する。図16Dに示す直列RC回路のインパルス応答は次のようなものである。すなわち、電圧発生器Vの電圧が図16Bに示すような電圧のスパイクで急激に上下するとき、コンデンサーC上の電圧は図16Aにおいて294におけるピークに上昇し、このピークは図16Bに示すインパルスのピーク電圧に等しく、次いで指数的に減衰して定常状態の電圧V₁に戻る。生ずる重み関数は、図16Cにおいて385に示すように時間で回転する図16Aのインパルス応答である。

【0116】近似の温度の段階的変化についての試料ブロック12の温度の典型的な温度履歴を示す仮説の曲線387は、図16C上に重ねられている。また、5つの試料時間T₁～T₅の温度が図16上に重ねられている。本発明の教示に従い、これらの時間T₁～T₅の各1つをその特定の時間における重み関数の値を掛け、次いですべてのそれらの積を合計し、そして5で割ることによって、試料温度は計算される。熱的システムが単一の温度定数の直線回路のように作用するという事実は、この複雑な熱的システムについての熱的熱移動の考慮の複雑さに基づく、驚くべき結果である。

【0117】1つの実施態様において、試料温度の計算は、ブロック温度センサーおよび試料液体への異なる熱的通路長さにより引き起こされる輸送遅れを説明する短い遅延により調節される。計算した試料温度は、図1に示す端末16上のユーザの情報のために表示される。図17において、96ウェルの試料ブロックを通る6つの異なるウェルの広がりについて、ハイブリダイゼーション／伸長温度範囲における比較的低い温度から変性のためのほぼ96℃の比較的高い温度への試料ブロック温度の段階的変化についての温度応答の結果が示されている。図17のグラフが示すように、システムが図16Dに示す直列RC回路に好ましくは類似する場合、試料温度における予測された指標の上昇の間にすぐれた一致が存在し、そしてまた、温度応答のきわめてすぐれた温度応答の均一性が存在し、ここでこの研究において使用した6つの試料ウェルの温度は、互いに非常に密接する温度においておよびほぼ0.5℃の幅である変性温度の

「許容されうる」バンドにおいて漸近的に安定する。

【0118】1つの実施態様において、最も最近のブロック温度の試料を連続加重平均について使用したが、他の実施態様において、異なる数の温度履歴試料を使用することができる。理論的に予測された結果とのすぐれた一致は、熱的対流の流れが試料液体をよく混合し、これによりこのシステムを直線方式で作用させるという事実から由来する。

【0119】96ウェルの列を通過する種々のウェルの広がりにおける試料温度の間の均一性は、試料ブロック構造における動力学的および静力学的局所的バランスおよび局所的対称性ならびにここに詳細に記載する他の熱的設

計因子から生ずる。しかしながら、急速な温度変化の間、ユーザが各試料ウェルに同一質量の試料液体を入れる場合にのみ、すべての試料ウェルは互いに0.5℃以内の温度を有するであろうことに注意すべきである。異なるウェルにおいて質量が等しくないとき、定常状態で、条件が不变であり、急速な変化の間のみにおいて温度は等しくなくなることはない。各ウェル中の試料液体の質量は、各試料の熱容量の決定において優性因子であり、したがって、その特定の試料ウェルについて熱的時間定数において優性因子である。

【0120】すべての試料ウェル中の試料液体を一致して上下の温度サイクルにかけ、そして標的温度を互いに非常に近くに、すなわち、わずかに0.5℃の幅である許容度のバンドにおいて安定化する能力、また、図15における力Fに依存するに注意すべきである。この力は、同様な質量の試料液体を充填したすべての試料ウェルの熱的時間定数が同一の温度定数を有する前に、最小の限界の力を越えなくてはならない。最小の限界の力は、ここに記載する試料管および試料ウェルの形状について30gであることが実験的に決定された。より高いレベルの精度について、図15における最小の限界の力Fは、前述したように安全性の追加の限界について少なくとも50g、好ましくは少なくとも100gであることが確立された。

【0121】試料ウェルの温度の熱的均一性の重要性は、図18を参照すると理解することができる。この図面は、DNAのある種のセグメントの増幅の1つの例についての、PCRサイクルにおいて発生したDNAの量と変性間隔の間実際の試料温度との間の関係を示す。93℃および95℃の温度の間の関数298の傾斜は、この特定のDNAのセグメントおよびプライマーについてほぼ8%/℃である。図18は増幅により発生したDNAの量に関する曲線の一般的な形状を示すが、この曲線の形状の詳細はプライマーおよびDNA標的の各異なる場合とともに変化する。97℃以上の変性のための温度は一般に高く、そして増加する変性温度について増幅を減少させる。95℃および97℃の間の温度は一般にちょうど正しい。

【0122】図18が示すように、ほぼ93℃の変性温度で安定化するこの特定のDNA標的およびプライマーの組み合わせを含有する試料ウェルは、94℃で変性したウェルより8%少ない典型的なPCRプロトコルの過程で発生したDNAを有するように思われる。同様に、95℃の変性温度で安定化するこの混合物の試料液体は、94℃の変性温度で安定化する試料ウェル中で発生したより8%多いその中で発生したDNAを有するよう思われる。この性質のすべての曲線は同一の一般形状を有するので、試料温度の均一性を有することは重要である。

【0123】前述したようにして計算した試料温度は、

41

ヒータおよびランプ冷却チャンネルを通して流れ制御し、そして種々の標的温度に試料が保持される長さを決定する制御アルゴリズムにより使用される。制御アルゴリズムは、これらの時間を使用して、ユーザが入れた各インキュベーション期間についての所望の時間と比較する。時間が合致するとき、制御アルゴリズムは次のインキュベーションについてユーザが定めた標的温度に向かう試料ブロックを加熱または冷却するために適当な工程を取る。

【0124】計算した試料温度は設定点、すなわち、ユーザがプログラミングしたインキュベーション温度の1°C内であるとき、制御プログラムはタイマを始動させる。このタイマをプリセットして、セットした数をカウントダウンして、実施されているインキュベーションについてユーザが特定した間隔をタイムアウトすることができる。計算した試料温度が1°C内にあるとき、タイマは始動してプリセットしたカウントからカウントダウンする。タイマがゼロカウントに到達するとき、信号は活性化され、これによりCPUはPCRプロトコルの次のセグメントを実行する作用をする。特定された間隔の時間を定める方法は、本発明を実施する目的について十分である。

【0125】典型的には、特定の標的温度付近の許容度のバンドは±0.5°Cである。いったん標的温度に到達すると、コンピュータはバイアス冷却チャンネルおよびフィルムヒータを使用して試料ブロックを標的温度を保持し、こうしてすべての試料は特定した間隔についての標的温度の近くに止まる。よく働くとここに記載する熱的システムについて、試料ブロックから各試料への熱伝導性は既知であり、そして非常に密接な許容度内に均一である。そうでなければ、タイマが始動するとき、すべての試料は標的温度の特定した許容度のバンド内にあるわけではなく、そしてすべての試料が標的温度において同一のインキュベーション間隔を経験するわけではない。

【0126】また、この熱的システムがよく働くためには、すべての試料管は周囲環境における変動から隔離しなくてはならない。すなわち、ある試料管をドラフトにより冷却し、一方物理的に異なる位置における他の試料管が同一冷却作用を経験しないようにすることは望ましくない。すぐれた均一性について、すべての試料の温度を試料ブロックの温度によってのみ決定することは高度に望ましい。

【0127】周囲からの管の隔離、および試料管を押し下げる最小の限界の力Fを加えることは、試料管および試料ブロックの上の加熱されたカバーにより達成される。試料液体は温度制御の金属ブロックの中に緊密にプレスした試料管の中に存在させ、緊密にキャップをし、メニスカスを温度制御の金属ブロックの表面よりかなり下にしてさえ、試料はなお対流により上方に熱を失う。

42

有意には、試料が非常に熱い（変性温度が典型的には試料液体の沸点付近にある）とき、試料液体は水蒸気の還流により非常に有意な量の熱を失う。このプロセスにおいて、水は熱い試料液体の表面から蒸発し、そしてキャップの内壁および試料ブロックの上部表面より上の試料管のより冷たい上部の上に凝縮する。比較的大きい体積の試料が存在する場合、凝縮は続き、そして凝縮物は蓄積しそして試料管の壁を下に流れて反応混合物の中に入る。この「還流」プロセスは還流される水の1g当たり約2300ジュールの熱を運ぶ。このプロセスは100μlの反応混合物の表面温度を数度低下させ、これにより反応の効率を大きく減少する。

【0128】反応混合物が少ない、例えば、20μlでありそして試料管が試料ブロックの上部表面より上で比較的大きい表面積を有する場合、反応混合物中の水の有意の分画は蒸発することができる。次いで、この水は試料管の上の部分の内側で凝縮し、そしてサイクルの高い温度の部分の残部の間に、表面張力によりそこに止まることができる。これは残りの反応混合物をそのように濃縮することができるので、反応は障害されるか、あるいは完全に失敗する。

【0129】先行技術のPCR熱的サイクルにおいて、この還流の問題は反応混合物の上に油または溶融した蠅の層を配置することによって処理された。この油または蠅の不混和性層は水性反応混合物上に浮き、そして急速な蒸発を防止した。しかしながら、油の添加に労力を要し、これは処理のコストを上昇させる。さらに、油の存在は処理および分析の後の工程を妨害し、そして試料の汚染の可能性をつくった。事実、工業鉛柄の鉛油は、過去において、ユーザに未知の油中の汚染因子の未知の存在により試料を汚染することが知られている。

【0130】油のオーバーレイの必要性は排除され、そして熱損失および蒸発による反応混合物の濃縮および還流により引き起こされる予測されない熱的作用の問題は、本発明の教示に従い、試料管の上の部分がその中に突起する試料より上の体積を取り囲み、そしてこの体積を上から加熱されたカバー（これは時には、また、定盤と呼ぶ）により加熱することによって回避される。

【0131】図19を参照すると、試料管を取り囲みそしてそれに下向きの力を加えて、図15において最小の限界力Fを供給する、構造体の断面図が示されている。加熱された定盤14をレッドスクリュー312に連結されていて、矢印314で示す軸に沿ってレッドスクリュー312の回転で上下に動く。レッドスクリューはすべりカバー316中の開口を通してねじ込められ、そしてノブ318により回転する。定盤314はコンピュータ20により制御される抵抗ヒータ（図示せず）により水の沸点以上の温度に加熱される。

【0132】すべりカバー316はレール320および322上をY軸に沿って前後にすべる。カバー316は

垂直側317および319を含みそして、また、試料ブロック12および試料管を囲むX-Z平面(図示せず)に対して平行な垂直側を含む。この構造は試料管(それらの管324および326は典型的である)にドラフトが作用するのを実質的に防止する。

【0133】図20は、すべりカバーが後退位置にあって試料ブロックへのアクセスを可能とする、すべりカバー316および試料ブロック12の斜視図である。すべりカバー316は長方形の箱の蓋に類似し、ここで垂直壁328は除去されてすべりカバー316を試料ブロック12の上にすべらせる部分330を有する。すべりカバーは、図20においてY軸に沿って、そのカバーが試料ブロック12の上の中央にくるまで動く。次いで、ユーザはノブ318をある方向に回して、ノブ318上のマーク332が飾り板336上のマーク334と一直線上になるまで、加熱された定盤14を下げる。ある実施態様において、飾り板336はすべりカバー316の上部表面に永久的に添付することができ、こうして異なる大きさの試料を使用するとき、インデックスマーク334は異なる位置に配置することができる。換言すると、より高い試料管を使用する場合、加熱された定盤14は図15における最小の限界力Fを加えるほど多く下げる必要はない。使用において、ユーザはスクリュー318をねじって、インデックスマークが一直線になるまで、定盤14を低下させる。次いで、ユーザは最小の限界力Fが各試料管に加えられたことを知る。

【0134】図15および図19と一緒に参照すると、図19における加熱された定盤14を下げる前に、各試料管のためのプラスチックキャップ338はプラスチックトレー340(図19)の壁の上部のレベルより上の約0.5mmまで粘着し、そしてプラスチックトレー340は9mmの中心上でゆるい8×12列ですべての試料管を保持する。試料ウェルの列は100μlの容量の96本までのマイクロアングル(登録商標)のPCR管または0.4mlの容量の48本までのより大きいジェネアングル(登録商標)を保持することができる。このトレーは下においてより詳細に論じられる。トレー340は試料管のための8×12の列を有する平らな表面を有する。この平らな表面は図15および図19の水平線として示されており、この水平線は図19において試料管324および326と交差する。トレー340は、また、4つの垂直壁を有し、それらのうちの2つは図19に342および344で示されている。これらの垂直壁の上部のレベルは、図15に346で示されており、参考平面を定める長方形の箱を確立する。

【0135】図15において最もよく見られるように、すべての試料管のキャップ338はこの参考平面346より上にある小さい量だけ突起し、その量はキャップ338を加熱された定盤14により軟化および変形し、そして参考平面346のレベルに下方に「押しつぶす」

ように設計される。好ましい実施態様において、加熱された定盤14は図1におけるCPU20および定盤14中の抵抗ヒータ(図示せず)に連結したバス22により105℃の温度に保持される。好ましい実施態様において、図19におけるノブ318およびレッドスクリュー312は、加熱された定盤14が下降そしてキャップ338の上部と接触するまで、回転される。好ましい実施態様において、試料管のためのキャップ338はポリプロピレンから作られる。これらのキャップは加熱された定盤14と接触するようになった短い時間で軟化する。キャップは軟化するにつれて、変形するが、それらの弾性のすべてを失うことはない。キャップと接触後、定盤は参考平面346上で配置されるまでさらに下降する。これはそれ以上の下降はキャップ338を変形し、そして少なくとも50gの最小の限界力Fで各試料管を押し下げて、各試料管を試料ウェルの中にしっかりと配置させる。キャップ338が参考平面346より上に突起する量、および加熱された定盤14が参考平面346の上に静止するときの変形および残留弾性の量は、少なくとも50g、好ましくは100gの最小の限界力Fがすべての試料管について達成され、次いで加熱された定盤14が参考平面346のレベルの下降した後存在するよう、設計される。

【0136】加熱された定盤14およびトレー340の4つの垂直壁および平らな表面は、定盤14がトレーの上部へり346と接触するとき、加熱され、シールされた隔室を形成する。トレー340のプラスチックは比較的劣った熱伝導性を有する。実験において、加熱された定盤14とキャップ338との接触および、比較的劣った熱伝導性を有する材料の壁による試料ブロック12の上部レベル2870より上に突起する試料管288の部分の隔離は、有益な結果を有することが発見された。この構造体により、管およびキャップの上の部分全体は、管およびキャップの内側表面上に凝縮物がほとんどまたはまったく形成しないように十分に高い温度にされる。なぜなら、加熱された定盤は水の沸点より上の温度に保持されるからである。これは、図15における試料液体276がその沸点付近の温度に熱されるときでさえ、真実である。これは試料混合物276の上部の上に浮く不混和性物質、例えば、油または蝋の層の必要性を排除し、これによりPCR反応に関係する労働の量を減少し、そして試料の起こりうる汚染の1つの源を排除する。

【0137】実験において、加熱されたカバーの非常に高い温度およびその試料ブロック12への密接性にかかわらず、高い温度および低い温度の間の正確なかつ急速なサイクルの試料ブロック12の能力への影響がほとんどないことが発見された。加熱された定盤14は前述の還流プロセスにより試料の冷却を防止する。なぜなら、それはキャップの温度を水の沸点より上に保持し、これ

によりキャップの内側を乾燥して保持するからである。これは、また、キャップが管から除去されたとき、エアゾールの形成を防止する。

【0138】他の実施態様において、図15における最小の許容されうる下向きの力F_zを存在する試料管の数に無関係に各個々の試料に加えることができ、そして凝縮および還流および対流冷却を防止する手段は、本発明を実施する目的に十分であろう。この下向きの力F_zの適用および還流および望ましくない試料液体の濃縮を防止する熱の使用の両者は、好ましい実施態様において実施するのと同一のシステムにより必ずしも実施する必要はない。

【0139】試料管はそれらの高さの数千分の1インチだけ変化することができる。さらに、試料管のためのキャップは、また、高さが数千分の1インチだけ変化することができる。また、試料ブロック12中の各円錐形試料ウェルは同一深さに正確に孔を開けることができなく、そして試料ブロック中の各円錐形試料ウェルはわずかに異なる直径および角度に孔を開けることができる。こうして、キャップをした管の集団は試料ブロックの中に配置して対応する試料ウェルの中に静止させると、キャップの上部はすべてが同一高さである必要はないであろう。この高さについて最も悪い不一致は最も高い管から最も低い管で0.5mm程度に多くあることができるであろう。

【0140】完全に平らな非加熱定盤14をそれがそれ自身の位置を自由に見いだすように取り付け、これをこのようなキャップの列の上に押し下げた場合、それはまず3つの一番高い管と接触するであろう。それ以上の圧力を加えそして一番高い管が多少圧縮されるとき、定盤はより低い管のあるキャップと接触し始めるであろう。管およびキャップのアセンブリーがしなやかでないかぎり、一番短い管が少なくとも接触する前に、一番高い管は損傷を受けるという、明確な可能性が存在する。あるいは、すべての高い管を十分に圧縮して一番短い管を接触させるために必要な力は、装置にそれを加えるのに大きすぎることがある。いずれの場合においても、1または2以上の短い管はまったくプレスされないか、あるいはその管の熱的時間定数がすべての他の管の熱的時間定数に等しいことを保証するために不十分な力で押し下げられることがある。これは試料ブロック中のすべての管について同一のPCRサイクルの達成を失敗させるであろう。なぜなら、異なる熱的時間定数をもつ管は他の管と歩調をそろえないであろうからである。定盤を加熱してキャップを軟化すると、これらの危険は、1つの因子として管の高さを異ならせる製作の許容度の誤差を排除することによって、排除される。

【0141】他の実施態様において、全体の加熱された定盤14はしなやかなゴム層でカバーされる。加熱された定盤上のしなやかなゴムは高さ許容度の問題を解決す

るが、また、加熱された定盤から管のキャップへの熱の流れを遅延させる熱的絶縁層として作用するであろう。さらに、高温度における長時間の使用では、ほとんどのゴム材料は劣化するか、あるいは堅くなる。したがって、加熱された定盤の表面は金属および熱のすぐれた伝導体であることが望ましい。

【0142】他の別の実施態様において、96の個々のばねを定盤に取り付けて、各ばねが単一の試料管を押し下げるようになることができる。これは複雑でありかつ費用のかかる解決法であり、そして機械的精確さをもつて定盤を管の列の上に整列させることができるのであり、この達成は困難または面倒である。好ましい実施態様における各試料管についての必要な個々のコンプライアンスはプラスチックキャップの使用により供給され、これらのキャップは定盤からの力の下で予測可能な方法でつぶれるが、つぶれたときでさえ、各試料管をそのウェルの中にしっかりと静止させて保持するために適切な下向きの力F_zをなお発揮する。

【0143】図15に示す試料管のキャップ338において、表面350はぎざぎざ、ぱりおよびカットを含まず、こうして試料管288の内側壁352とハーメチックシールを提供できるようにすべきである。好ましい実施態様において、キャップの材料はポリプロピレンである。適当な材料は前述のヒモント(Himont)により製作されたヴァルティク(Valtec)HH-444またはPD701ポリプロピレンまたはアメリカン・ヘスヒト(American Hecht)によりPPW1780であることができる。好ましい実施態様において、キャップのドーム部分についての壁厚さは0.130±0.05インチ(3.30±0.12mm)である。好ましい実施態様において、肩部分356の厚さは0.025インチ(0.64mm)であり、そしてキャップのドーム形部分の幅は0.0203インチ(0.52mm)である。

【0144】図15における最小の限界力F_zをすべての試料管に加え、そしてキャップおよび試料管の上の部分を凝縮および還流を防止するために十分な高い温度に加熱させる、キャップの材料および形状は、本発明を実施する目的に十分であろう。ドーム形のキャップ338はキャップの変形を促進する薄い壁を有する。加熱された定盤は高い温度に保持されるので、ドーム形のキャップの壁厚さは射出成形により容易に製造するために十分に厚くあることができる。なぜなら、管の高さの差を説明するために必要なコンプライアンスは室温において不必であるからである。

【0145】定盤は本発明の教示に従い94°C~110°Cの温度に保持することができるが、水の沸点は100°Cであるので、100°C~110°Cの範囲は還流の防止に好ましい。この温度範囲において、キャップは1mm程度に多く容易につぶれるためにちょうど十分に軟化することが実験的に発見された。研究において、使用するボ

リプロピレンの弾性は、これらの温度においてさえ、つぶれが完全には非弾性的でないようなものであることが示された。すなわち、加熱された定盤はキャップの永久的変形を引き起こすが、キャップの材料は、それらの室温の弾性率の有意に十分な部分をなお保持するので、最小の限界力Fは各試料管に加えられる。さらに、キャップの軟化のために、試料ブロックの中にいかに多くの管が存在するかに無関係に、過度の力を使用しないで、加熱された定盤はそれと接触するすべてのキャップを一様な高さにする。

【0146】キャップの温度はPCRサイクル全体の間に水の沸点より上であるので、各キャップの内側表面は完全に乾燥して止まる。こうして、PCRプロセスの終わりにおいて、試料を試料ブロックから取り出す前に室温に冷却し、各試料管上のキャップを開く場合、交差汚染を生じうる試料管の内容のエアゾールの噴霧が発生する可能性は存在しない。なぜなら、シールを破壊したとき、管のシールに対するキャップに液体が存在しないからである。

【0147】これはきわめて有利である。なぜなら、増幅した生成物のDNAを含有するエアゾールの小さい粒子は実験室を汚染し、そして他の源、例えば、他の患者からの試料を含有する試料管の中に入り、これにより非常に面倒である誤った陽性または陰性の診断結果を多分引き起こすからである。PCR増幅プロセスのユーザは、他の試料を汚染しうるエアゾールの発生に極めて関心をもつ。

【0148】使い捨てプラスチック製品のシステムを使用して個々の試料管を 8×12 列に変換し、この 8×12 列はマイクロタイタープレートのフォーマットの実験室の装置と適合性であるが、十分な個々の動きの自由度を維持して、システムの成分の熱膨張の種々の速度の差を補償する。熱的にしなやかなキャップの関係は試料ブロック、およびキャップを所定位置にもつ2本の試料管の断面図である図21Aにおいて最もよく見られ、そして試料管はプラスチックの96ウェルのマイクロタイタープレートおよびリテイナーの1つの実施態様の組み合わせにより所定位置に保持されている。図21Bは、システムの種々の使い捨てプラスチック製品のほとんどの構造および相互作用を示す、別の好ましい実施態様である。長方形のプラスチックの96ウェルのマイクロタイタープレートのトレー342は試料ブロック12の表面上に静止する。フレーム342の上部へり342は、キャップ（その1例はキャップ364である）の高さよりも0.5インチ（12.7mm）短い高さを有する。キャップ付き管のすべてはフレーム342のへり346より高く突起する。フレーム342は、下向きに延びるうちね366がその全長を通してガードバンドみぞ78の中に延びる。しかしながら、フレーム342はキャップ（図示せず）を有し、このキャップは図2に平面図で示

しそして図7に断面図で示す温度センサーのためのみぞ78中のギャップに相当する。前述の参照平面346はフレーム342の上部により確立される。この参照平面が加熱された定盤と相互作用する方法は次の通りである。図20におけるノブ318をねじ込んでインデックスマーク332および334に合致させて增幅実験を開始する前に、目盛り定めプロセスを実施して図20における飾り板336上のマークの位置を決めた。この目盛り定めは図21におけるフレーム342を試料ブロックの位置に配置することによって開始する。しかしながら、フレーム342は空であるか、あるいはその中の管は所定位置にキャップをもたないであろう。次いで、ノブ318をねじ下げて、加熱された定盤14をフレーム342の上部へり346とその周辺全体の回りにしっかりと接触させる。ノブ38を十分にねじ下げて加熱された定盤を参照平面346上に静止させそしてフレーム342を試料ブロックの上部表面280に対してしっかりとプレスしたとき、好ましい実施態様の回転可能な飾り板336を回転させて、飾り板上のインデックスマーク334をノブ318上のインデックスマークと一致させる。次いで、ノブ318を反時計回りに回転して定盤14を上昇させ、そして図19におけるカバー316をネガティブY方向にすべらせて、フレーム342および試料ブロック12のカバーを取る。次いで、試料混合物を充填したキャップ付き試料管をフレーム342中の所定位置に配置することができる。次いで、加熱されたカバー316を試料ブロックの上に配置し戻し、そしてノブ318を時計回り回転して加熱された定盤14を下げて、ノブ上のインデックスマーク332を前述したように位置決めしたインデックスマーク334と一致させる。すべての管を最小の力Fでしっかりと静止させるというこの保証が適用された。インデックスマークの使用はユーザに簡単な、評価可能なタスクを実施させる。

【0149】わずかの試料管のみが所定位置に存在する場合、インデックスマーク332および334を一致させるために、小量のトルクを必要とするだけである。しかしながら、多数の管が存在する場合、インデックスマークを一致させるために、ノブ318上により多くのトルクを必要とするであろう。なぜなら、各管はキャップが変形するとき加熱された定盤14の下向きの動き抵抗するからである。しかしながら、インデックスマーク332および334が整列したとき、加熱された定盤はもう一度フレーム342の上部へり346に対して緊密に配置され、そしてすべての管はそれに加えられた最小の限界力Fを有するであろうことを、ユーザは保証される。これが事実上保証するように、すべての管の熱的時間定数は実質的に同一である。

【0150】他の実施態様において、インデックスマーク332および334を省略し、そしてノブ318をそれがそれ以上回転しなくなるまで単に回転することがで

きる。加熱された定盤14が上部へりまたは参照平面346に到達し、そしてプラスチックフレーム342が加熱された定盤14のそれ以上の下向きの動きを停止させたとき、上の状態は起こる。明らかなように、この実施態様において、および前述のインデックスマークの実施態様において、フレーム342のプラスチックは、それが加熱された定盤14と接触するとき、フレーム342のプラスチックの変形を防止するために十分に高い融溶温度を有するであろう。好ましい実施態様において、フレーム342のプラスチックは0.05インチ(1.27mm)の壁厚さをもつセラニーズナイロン1503である。

【0151】前述のシステムの利点は、異なる高さを有するフレーム342を単に使用することによって、異なる高さの試料管を使用できるということである。フレーム342は、それと管が試料ブロックの中に配置されているとき、キャップされた管の先端の平面よりほぼ0.5mm短い高さを有すべきである。好ましい実施態様において、2つの異なる管高さを使用する。図19において加熱された定盤14を推進させるレッドスクリュー312の動きの範囲は、使用すべき試料管のすべての異なる大きさについて十分でなくてはならない。もちろん、特定のPCR処理サイクルの間、すべての管は同一高さでなくてはならない。

【0152】前述のシステムは、試料ブロックにおいて均一な温度、ブロックから試料への均一な熱伝導性、および周囲環境の変動性からの管の絶縁を提供する。96までの任意の数の試料管はマイクロタイタープレートのフォーマットで配列することができる。このシステムは、非常に多数の試料についての正確な温度制御を提供し、そして任意の試料の温度を実際に測定しないで、すべての試料についての試料温度の視的指示を提供する。

【0153】PCR反応のために容器として、先行技術において、マイクロ遠心器のために本来設計されたポリプロピレン管が普通に使用されてきている。この先行技術の管は円筒形の断面を有し、その上部は気密シールをつくるスナップ式キャップにより閉じられていた。この先行技術の管は、ほぼ17°の夾角をもつ円錐台形からなる底区画を有した。

【0154】このような円錐形試料管を同一夾角をもつ円錐形キャビティを有する試料ブロックの試料ウェルの中に押し下げ、そしてこの管中の試料混合物が円錐形体積内にかつ試料ブロックより下に完全に横たわると、ブロックと液体との間の熱伝導は列を通る試料温度のすぐれた均一性について適切に予測可能にすることができる。試料ブロックと試料混合物との間の熱伝導の適切な制御を達成するために、円錐形管および試料ウェルの夾角は密接に合致しなくてはならず、そして管およびウェルの円錐形表面はなめらかでありかつ平らな関係で一緒に保持されなくてはならない。さらに、最小の限界力F

を各試料管に加えて各管を試料ウェルの中に緊密にプレスし、こうして熱的サイクリング、例えば、図15において空間291の中に捕捉された液体からの水蒸気の形成の間、なんらかの理由で試料管が上昇またはゆるくならないようにしなくてはならない。最後に、各管に同一量の試料液体を充填しなくてはならない。上に列挙した条件が満足される場合、試料ブロックと各管中の試料液体との間の熱伝導性は、図15における円錐形プラスチック壁368、および円錐形試料管壁の内側表面370における試料液体の境界層(図示せず)の伝導性により、主として決定されるであろう。

【0155】プラスチック管壁の熱伝導性はそれらの厚さにより決定され、そしてそれらの厚さは管製造の射出成形法により密接にコントロールすることができる。試料管中の試料液体は事実上同一の熱的性質を有する。実験により、および計算により、成形した96ウェルのワンピース型マイクロタイタープレートはPCRについて限界的にのみ可能であることが発見された。なぜなら、アルミニウムとプラスチックとの間の熱膨張係数は、列を横切る試料液体への熱伝導性の均一性を破壊しうる寸法変化に導くからである。すなわち、このようなワンピース型プレート中の各ウェルはプレート表面を通して他のウェルに円錐形されるので、ウェル間の距離はプレートの初期の製造時に決定されるが、プレートのプラスチックは有意に異なる熱膨張係数を有するので温度変化とともに変化する。また、金属の試料ブロック12中の試料ウェル間の距離は試料ブロックの温度に依存する。なぜなら、アルミニウムは、また、プラスチックの熱膨張係数と異なる、有意の熱膨張係数を有するからである。すぐれた熱伝導性を有するためには、96ウェルのワンピース型マイクロタイタープレート中の各試料ウェルは、すべての温度において試料ブロック中の対応するウェルにおいてほとんど完全に適合するであろう。試料ブロックの温度は非常に広い範囲の温度にわたって変化するので、試料ブロック中の試料ウェルの間の距離はPCRサイクルの間にサイクル的に変化する。プラスチックおよびアルミニウムの熱膨張係数は実質的に異なるので、試料ブロック中のウェルの分離距離はプラスチックの96ウェルのワンピース型マイクロタイタープレートの試料ウェル間の距離についてより変化する温度にわたって異なるようになる。

【0156】こうして、PCR温度範囲にわたる試料管と対応する試料ウェルとの間の完全な適合のための重要な基準として、96ウェルの列中の各試料管は個々に自由に横方向に動くことが必要であり、そして試料ウェルの壁を平らな接触を行うためにどんな量が必要であっても、各管は個々に自由に押し下げられなくてはならない。

【0157】本発明において使用する試料管は先行技術のマイクロ遠心器管と異なり、試料管の円錐の切頭部分

の壁厚さは試料液体に入りする熱移動を速くするために非常に薄い。これらの上の部分は円錐形部分より厚い壁厚さを有する。図15において、円筒形部分288の壁厚さは一般に0.030インチ(0.76mm)であるが、円錐形壁368の壁厚さは0.009インチ(0.23mm)である。薄い部分は射出成形プロセスにおいて厚い部分より速く冷却するので、薄い部分が冷却する前に完全な成形物を得ることが重要である。

【0158】試料管の材料は化学的にPCR反応と適合性でなくてはならない。ガラスはPCRの適合性材料ではない。なぜなら、DNAはガラスに粘着し、そして剥離せず、PCR增幅を妨害するからである。好ましくは、オートクレーブ処理可能なポリプロピレンを使用する。これらの型の適当なポリプロピレンは上に識別した通りである。あるプラスチックは、プラスチックからのガス発生のためにあるいはプラスチック壁へのDNAが粘着するために、PCRプロセスと適合性ではない。ポリプロピレンはこの時点において最もよく知られているプラスチックのクラスである。

【0159】普通の射出成形技術および射出成形のために型製造技術は、本発明を実施する目的に十分である。円錐形の試料管の使用は、実質的にすべての製造の許容度の誤差を高さの誤差、すなわち、試料管を試料ウェルの中に配置させたとき、キャップの先端対試料プロックの上部の高さの管毎の変動性に転換する。例えば、試料管壁の角度についての角度の誤差は、管を試料プロックの中に配置したとき、高さの誤差に変換される。なぜなら、管壁の角度と試料ウェル壁の角度は一致しないからである。同様に、円錐の寸法の直径の誤差は、また、高さの誤差に変換される。なぜなら、管の円筒形部分はより深く侵入するか、あるいは適切な寸法の管ほど多く侵入しないからである。

【0160】列を横切る熱伝導性のすぐれた均一性のために、試料管と試料ウェルとの間のすぐれた適合は、熱膨張速度の差に無関係に、0~100°Cの完全な温度範囲にわたって、すべての96ウェルについて存在しなくてはならないであろう。また、96の試料管の各々は非常に高い程度に均一である寸法および壁厚さをもつ壁をもたなくてはならない。試料混合物を保持すべき各試料管は取り外し可能な気密キャップを装備すべきであり、そしてこのキャップは気密シールをつくり、この混合物がその沸点にその付近にあるとき、反応混合物からの水蒸気の損失を防止し、こうして試料混合物の体積が減少しないようにする。すべてのこれらの因子は組み合って、すべての96ウェルについて均一な熱伝導性を達成する方法における、96の個々の試料ウェルをもつワンピースのマイクロタイプレートの製造を困難とする。

【0161】各試料管について必要な個々の横方向および垂直方向の自由度を提供する構造は、本発明を実施す

る目的に十分であろう。本発明の好ましい実施態様の教示に従い、すべての前述の要件は4ピースの使い捨てプラスチックシステムの使用により達成された。このシステムは、異なる熱膨張速度を補償するために必要なすべての方向における十分な自由度を各試料管に与えそして、しかも、工業的標準の96ウェルのマイクロタイタープレートを使用して作業する大きさである他の実験室の装置との適合性およびユーザの便利さのために、96ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットで96までの試料管を保持する。マルチピースの使い捨てプラスチックシステムは製造の許容度の誤差およびPCR熱サイクルの間に直面する広い温度範囲にわたる異なる熱膨張速度に対して非常に許容性である。

【0162】図21Aおよび21Bは、異なる熱膨張速度を説明する十分な自由度で試料ウェルの中に複数の試料管を保持するように組み立てられた、4ピースのプラスチックシステムの成分の大部分の別の実施態様を断面図で示す。図45は、使い捨てプラスチックマイクロタイタープレートのエムレーショナリーシステムのすべての部分を分解図で示す。この図面は、すべての試料管が8×12のマイクロタイタープレートのフォーマットの96ウェルの列でゆるく保持して、部分を通して適合してマイクロタイタープレートを形成する方法を示す。図22は、図21Aおよび21Bに部分的に断面図で示されている、本発明の教示に従うマイクロタイタープレートのフレーム342の平面図を示す。図23はフレーム342の底平面図を示す。図24は図22の線24-24'から取ったフレーム342の端面図である。図25は図22の線25-25'から取ったフレーム342の端面図である。図26は図22の線26-26'から取ったフレーム342の断面図である。図27は図22の線27-27'から取ったフレーム342の断面図である。図28は図22の線28-28'から取ったフレーム342の側面図であり、部分的に切断して下に記載するリティナーがフレーム342にクリップする位置を詳細に示す。

【0163】図21A、21Bおよび22~28と一緒に参照すると、フレーム342は水平のプラスチックプレート372から構成され、ここで標準のマイクロタイタープレートのフォーマットで9mmの中央に間隔を置いて96の孔が形成されている。8つの行A~Hおよび12の列1~12が存在する。行D、列7における孔374はこれらの孔の典型である。フレーム342中の各孔の中に、円錐形試料管、例えば、図15に示す試料管376が存在する。各試料管はそれが配置されている孔より直径が約0.7mmだけ小さいので、孔中のゆるい嵌合が存在する。これは図21Aおよび21Bにおいて、典型的な孔の内側へり378とその中に配置された試料管の側壁380との間の距離を観察することによって最もよく理解される。図21Aおよび21B中の参照数字3

82は、試料管376の円筒形部分の外側壁から、また、間隔を置いて位置する孔の対向するへりを示す。

【0164】各試料管は図15、21Aおよび21Bに384で示された肩を有する。この肩は各試料管の円筒形部分288の全周囲の回りに成形される。この肩384の直径は十分に大きいので、それはフレーム342中の孔を通過せず、しかも付近の孔の中の隣接する管の肩に接触するほど大きくない。いったんすべての管がフレーム中のそれらの孔の中に配置されると、プラスチックリティナー386(図21Aおよび21Bおよび図45に最もよく示されている)はフレーム342中の開口の中に嵌合される。このリティナーの目的はすべての管を所定位置に配置し、こうしてそれらはフレーム342の中から外に落下または押し出されることができず、またフレーム342中のゆるい適合を妨害しない。各試料管がある程度垂直に上下した後、管の肩384がリティナー386またはフレーム342に直面するように、リティナー386は大きさが決定されかつフレーム342に適合する。こうして、フレームおよびリティナーは、連結されると、96までの試料管をマイクロタイタープレートのフォーマットに提供するが、図15においてすべての管が最小の限界力Fの影響下にすべての温度においてその最良の嵌合を自由に見いだすように、十分な水平および垂直の自由度を提供する。

【0165】試料管および肩のより明瞭な外観は図29および30を参考すると得ることができる。図29および30は、それぞれ、典型的な試料管の肩部分の側面図および部分的上部断面である。プラスチックのドーム形キャップ、例えば、下に詳細に記載するキャップは、図29に示す試料管の中に挿入し、そして試料管の上部の内側壁390とハーメチックシールを形成する。試料管の内側壁の中に形成されたうね392は、ドーム形キャップについてストップとして作用して、それ以上の侵入を防止する。通常、ドーム形キャップはウェブにより接続されるストリップとなる。

【0166】図31はウェブ394により接続されそしてタブ396で終わる3つのキャップを側面図で示す。このタブは単一の引きによりキャップの列全体を除去するのを促進する。通常、ウェブ394は試料管の上部表面398上に位置し、そしてキャップが試料管の中にさらに侵入するのを防止する。各キャップはキャップと試料管の内側壁との間にハーメチックシールを形成するうね400を含む。図32は12の接続されたキャップの典型的なストリップ中の3つのキャップの上面図を示す。

【0167】リティナーのより詳細な理解のために、図33～37を参照する。図33はプラスチックのリティナーの上面図である。図34は図33の線34-34'に沿って取ったリティナーの側面図である。図35は図33の線35-35'に沿って取ったリティナーの端面

図である。図36は図33の線36-36'に沿って取ったリティナーの断面図である。図37は図33の線37-37'に沿って取ったリティナーの断面図である。

【0168】図33～37と一緒に参照すると、リティナー386は垂直壁404により取り囲まれた単一の水平のプラスチック平面402から構成されている。平面402はその中に形成され、4孔/群の24群に分割された、8×12列の96孔を有する。これらの群は平面402の中に形成されたうね、例えば、うね406および408により区画されている。各孔、それらのうちの孔410は典型的である、は直径Dを有し、この直径Dは図29における直径D₁より大きく、そして直径D₂より小さい。これにより、リティナーは試料管がフレーム342の中に配置された後、試料管の上をすべることができるが、肩384は大き過ぎて孔410を通過できないので、試料管がフレームから落下するのを防止する。

【0169】リティナーはフレーム342の中に、図34および36に示すプラスチックタブ414により嵌合する。これらのプラスチックタブは、図23に示すように、フレーム中のスロット416および418を通して押される。2つのプラスチックタブが存在し、各々はリティナーの長いへり上に存在する。これらの2つのプラスチックのタブは図33に414Aおよび414Bとして示されている。

【0170】図22～28のフレーム342は、その中に配置された96までの試料管をもちそして所定位置に嵌合されたリティナー386をもち、単一の単位、例えば、図21Aおよび21Bに示すような単位を形成し、これはPCR処理のために試料プロック12の中に配置することができる。処理後、フレーム342を試料プロックの中から外に持ち上げることによって、すべての管を同時に取り出すことができる。便利さおよび貯蔵のために、試料管およびリティナーを所定位置にしてフレーム342を、ベースと呼ぶ他のプラスチック成分の中に挿入することができる。ベースは標準の96ウェルのマイクロタイタープレートの外側寸法およびフットプリント(f o o t p r i n t)を有し、そして図38～44に示されている。図38はベース420の上面図であるが、図39はベースの底面図である。図40は図38の線40-40'に沿って取ったベースの側面図である。図41は図38の線41-41'に沿って取ったベースの端面図である。図42は図38の線42-42'に沿って取ったベースの断面図である。図43は図38の線43-43'に沿って取ったベースの断面図である。図44は図38の線44-44'に沿って取ったベースの断面図である。

【0171】ベース420はプラスチックの平らな平面422を含み、ここで傾斜したへりをもつ8×12列の孔が形成されている。フレーム342がベースの中に位

置しているとき、試料管の底がベース中の円錐形孔の中に嵌合するような、寸法および間隔をこれらの孔は有し、こうしてフレーム342を試料ブロックに取り付けるとき、試料管が保持されるのと同一のフレーム342に対する関係で試料管は保持されている。孔424はベースの中に形成された96の孔の典型であり、そして図38、44および43に示されている。個々の試料管は、トレーとリティナーとの間にゆるく捕捉されているが、フレームがベースの中に挿入されているとき、しっかりと位置し、そして不動となる。典型的な試料管424がベースの中に嵌合される方法は図44に示されている。

【0172】換言すると、フレーム、試料管およびリティナーがベース420の中に位置するとき、全体のアセンブリーは工業的に標準の96ウェルのマイクロタイタープレートの正確な機能的同等のものとなり、そしてそれ以上の処理のために96ウェルの工業的に標準のマイクロタイタープレートのための事実上任意の自動化ピッティングまたはサンプリングのシステムの中に配置することができる。

【0173】試料管は必要な試薬および増幅すべきDNAで充填した後、試料管にキャップすることができる。図31および32に示すキャップのストリップの他の実施態様において、8×12列でキャップを接続するしなやかなウェブをもつ96キャップのマット全体を使用することができます。これはウェブは、図31に394で示されており、十分にしなやかであり、こうしてキャップは試料管が小さい動きを妨害されないようにしなくてはならず、これらの試料管はすべての温度において試料管の円錐形壁の中に完全に嵌合しなくてはならない。

【0174】管、キャップのフレーム、リティナーおよびベースのアセンブリーは、管の充填後、サーマルサイクラーに入れる。そこで、フレーム、キャップ付き管およびリティナーのプレートはベースから1単位として取り出される。次いで、この単位を試料ブロック12の中に配置して、図21Aおよび21Bに示すアセンブリーを作り、管は試料ブロック中の円錐形壁の中にゆるく保持されている。図21に示すように、フレーム342はガードバンドの上部表面上に位置する。好ましい実施態様において、うね366はガードバンドのみぞ78の中に下向きに延びるが、これは必須ではない。

【0175】次に、加熱されたカバーは試料の上にすべり、そして加熱された定盤を前述したようにスクリューで下げて、フレーム342の上部へり346と接触させる。図19における加熱された定盤14がキャップ接触した後、数秒以内で、キャップは軟化し、そして図19におけるレッドスクリュー312からの下向きの圧力下に降伏する。次いで、ノブ318を回転して、図20におけるインデックスマーク332および334を合致させ、これはすべての試料管を試料ブロックの中に、少な

くとも最小の限界力Fおよび加熱された定盤14の間のすべての空気ギャップで、緊密にプレスさせ、試料ブロックおよびフレーム342の上部へり346は緊密に閉じる。ここで、試料管は完全に閉じ、制御された環境の中にあり、そして温度の正確なサイクリングを開始することができる。

【0176】PCRプロトコルの終わりにおいて、加熱された定盤14は上方に、試料管から離れる方向に動き、加熱されたカバー316は道からはずれすべてフレーム342および試料管を露出する。次いで、フレーム、試料管およびキャップを取り出し、そして空のベースの中に再配置し、そしてキャップを除去することができる。各キャップまたはキャップのひもを引き、リティナーは管をトレーの中から外に出ないように保持する。ベースの中に形成したリブ（図38～44に示されていない）は、図33に示すリティナータブ414Aおよび414Bと接触してリティナーを所定位置にスナップして保持し、こうしてキャップの除去により管に加えられた力がリティナー366を変位させないようにする。

【0177】明らかのように、フレーム342は、必要に応じて、96より少ない管とともに使用することができる。また、リティナー386は、必要に応じて、スナップを分離することによって、除去することができる。一度に数本の管を使用し、そしてこれらの管を個々に取り扱とき、試料ブロック上にリティナーを使用しないで、空のフレーム342を配置することができる。次いで、ユーザは「試験管のラック」としてベースを使用し、そしてその中に小さい数の管をセットする。次いで、管は手動で充填し、そして個々のキャップをすることができる。次いで、管を試料ブロック中のウェルの中に個々に入れ、加熱されたカバーを閉じ、そして加熱された定盤14をスクリューで下げて、マークを合致させる。次いで、PCRサイクルを開始できる。サイクリングが完結したとき、カバー316を除去し、そして試料管を有効なベースの中に個々に配置する。リティナーはこの型の使用において不必要である。

【0178】図47および図48を参照すると、図1においてCPUブロック10により表される制御システムの好ましい実施態様のブロック線図が示される。図47及び図48の制御エレクトロニクスの目的は、なかでも、所望のプロトコルを定めるユーザの入力データを受けとりかつ記憶し、種々の温度センサーを読み、試料温度を計算し、計算した試料温度をユーザが定めたPCRプロトコルにより定められた所望の温度と比較し、電力ラインの電圧をモニターし、そしてフィルムヒータソーンおよびランプ冷却弁を制御して、ユーザが定めたPCRプロトコルを実施することである。

【0179】マイクロプロセッサ（以後CPUという）450は、下に記載しそしてソースコードの形で付録Cに記載されている制御プログラムを実行する。好ましい

実施態様において、CPU450は「OKI CMOS 8085」である。CPUはアドレスバス452を推進し、これにより図47及び図48における他の回路要素の種々のものがアドレスされる。CPUは、また、データバス452を推進し、これによりデータは図47及び図48における他の回路要素の種々のものに伝えられる。

【0180】付録Cの制御プログラムおよびあるシステム定数はEPROM456に記憶される。ユーザが入れたデータおよびシステム定数および導入プロセスの間に測定された特性（下に記載する導入プログラムの実行）はバッテリーパックアップRAM458に記憶される。システムクロック／カレンダー460は、制御ソフトウェアの説明において下に記載する、PCRの実行および電力故障の間の事象の履歴を記録する目的で、データおよび時間の情報をCPU450に供給する。

【0181】アドレスデコーダー462はアドレスバス452からのアドレスを受けとりそしてデコードし、そしてチップ選択バス464上の適当なチップ選択ラインを活性化する。ユーザはディスプレイ468上のCPUにより表示される情報に応答してキーボード466を経てPCRプロトコルを入れる。ユーザとCPU450との間の2ウェイ連絡は、制御ソフトウェアの説明のユーザのインターフェースの節において以下で詳細に記載する。キーボードインターフェース回路470はユーザのキーを、データバス454を経てCPUにより読まれるデータに変換する。

【0182】プログラム可能な間隔タイマー472および474の各々はカウンターを備え、これらのカウンターはCPU450により計算されたカウントを負荷されて、電力が種々のフィルムヒータゾーンに加えられる間隔を制御する。割り込み制御装置476は、割り込み要求をCPU450に200ミリ秒毎に送って、制御ソフトウェアの説明において以下で記載するPIDタスクをCPU450に実行させる。このタスクは温度センサーを読みそして加熱または冷却の電力を計算して試料温度を現在のレベルから、ユーザが望むレベルに動かし、これはそのPCRプロトコルにおける時点のために実行される。

【0183】UART478は、RAM480に記憶されたデータをプリンタに出力できるように「RS232」インターフェース回路480にサービスする。制御ソフトウェアは各PCRランのレコードを維持し、これは実際に実行されたPCRプロトコルがユーザが望むPCRプロトコル対応したというユーザの評価の目的のためのランの間に、種々の時間に存在した実際の温度について実施される。さらに、特定のPCRプロトコルの間に望む特定の時間および温度を定めるユーザが入れたデータが記憶される。すべてのこのデータおよび他のデータは、CPU450により同様によく読まれ、そしてUA

RT478を経てRS232ポートに連結されたプリンタに出力される。RS232インターフェースは、また、外部のコンピュータに試験の目的でアドレスおよびデータバスの制御をさせる。

【0184】周辺インターフェースチップ（以後PICといふ）482は、4入力／出力レジスタのプログラム可能なセットとして働く。パワーアップにおいて、CPU450はアドレスデコーダー462およびチップ選択バス464を経てPIC482を選択する。次いで、CPUはPICへのデータワードをデータバス454を経て書いて、どのレジスタを出力ポートおよび入力ポートにすべきかに関して、PIC482をプログラミングする。引き続いて、CPU450は出力レジスタを使用して、プログラム可能なアレイ論理チップ（PAL）484の内部の論理状態を制御するために、データバス454を経てCPUによりその中に書かれたデータワードを記憶する。

【0185】PAL484は、複数の入力信号および複数の出力信号を有する状態装置である。PALは一般にある数の異なる状態を有する論理の列を含有する。各状態は入力における論理状態の列またはベクトルにより定められ、そして各状態は出力の論理状態の異なる列またはベクトルを生ずる。CPU450、PIC482、PAL484および下において定義するいくつかの他の回路は、共働してPAL484からの種々の出力信号の異なる状態を発生する。これらの異なる状態および関連する出力信号は、以下に記載するように図47及び図48に示すエレクトロニクスの作動を制御するものである。

【0186】12ビットのアナログデジタル（A/D）コンバータ486は、ライン488および490上のアナログ電圧をデータバス454上のデジタル信号に変換する。これらはCPUによりA/Dコンバータのためのアドレスを発生し、こうしてA/Dコンバータのチップ選択入力に連結したバス464上にチップ選択信号が活性となりそしてコンバータを活性化することによって読まれる。ライン488および490上のアナログ信号は、2つのマルチプレクサ492および494の出力ラインである。マルチプレクサ492は4つの入力ポートを有し、各々は2つの信号ラインを有する。これらのポートの各々はシステムにおける4つの温度センサーの1つに連結されている。第1のポートは試料ブロックの温度センサーに連結されている。第2および第3のポートは、それぞれ、冷却液および周囲の温度センサーに連結されており、そして第4ポートは加熱されたカバーの温度センサーに連結されている。これらの温度センサーの各1つのための典型的な回路は図49に示されている。2,000オームの抵抗器496は、ノード497において、バス接続ライン（図示せず）を経て図47及び図48における調整された+15ボルト電力供給498を受ける。この+15DC信号のリバ-

スはゼンナーダイオード500をバイアスする。リバースバイアス電流およびゼンナーダイオードを横切る電圧低下は温度の関数である。ダイオードを横切る電圧低下は、ライン502および504を経てマルチブレクサ292に入力される。各温度センサーはマルチブレクサ292への同様な接続を有する。

【0187】マルチブレクサ494は、また、入力ポートを有するが、3つのみが接続されている。第1入力ポートは較正電圧発生器506に連結されている。この揮発性発生器は、2つの精確に制御された電圧レベルをマルチブレクサの入力部に出力し、そして非常に熱的に安定である。すなわち、電圧源506により参照電圧の出力は、少なくとも温度とともに、ごくわずかにドリフトする。この電圧は時間毎にCPU450により読み込まれ、そして、この参照電圧が下に記載する導入プロセスの実行の間に測定された既知の温度において有したレベルを表す、記憶された定数と比較される。参照電圧が測定されたレベルからドリフトしそして導入プロセスの間に記憶された場合、種々の温度およびライン電圧を感じするための使用した他の電子回路が、また、ドリフトし、そしてそれらの出力を調節し、相応して温度測定プロセスにわたって非常に正確な制御を維持することをCPU450は知る。

【0188】マルチブレクサ494への他の入力は、ライン510を経てRMS対DCコンバータ回路512へ連結される。この回路はステップダウントランス516に連結された入力514を有し、そしてAC電力入力518にそのとき存在するライン電圧に対して比例するAC電圧を入力514において受けとる。RMS対DCコンバータ回路512はAC電圧を整流し、そしてそれを平均して、ライン518上のAC入力電圧に対して、また、比例するDC電圧をライン510上に発生する。

【0189】4つの光学的に連結されたトライアックドライバー530, 532, 534および536は、PAL論理484から制御バス538を経て制御信号を受けとる。トライアックドライバー530, 532および534の各々は、3つのフィルムヒータゾーンの1つへの電力を制御する。これらのヒータゾーンはブロック254, 260/262および256/258(図13において使用したのと同一の参照数字)により表される。トライアックドライバー536は、ブロック544により表される加熱されたカバーへの電力を熱的カットアウトスイッチ546を経て制御する。フィルムヒータのヒータゾーンはブロック熱的カットアウトスイッチ548により保護される。熱的カットアウトスイッチの目的は、不安定な間隔の間放置されているトライアックドライバーに導く破壊の場合において、加熱されたカバー上にフィルムヒータ/試料ブロックの溶融を防止することである。このような事象が起こった場合、熱的カットアウトスイッチは過度に熱い状態を検出し、そしてライン55

2または554上のトライアックを遮断する。

【0190】フィルムヒータの主なヒータゾーンは360ワットの定格であるが、マニホールドおよびヘリのヒータゾーンは、それぞれ、180ワットおよび170ワットの定格である。トライアックドライバーは「モトローラ MAC 15A1015アンプトライアック」である。各ヒータゾーンは2つの電気的絶縁された区画に分割され、各々は1/2の電力を消散する。2つの半分は150ボルトのRMSより低いライン電圧518について並列に接続されている。これより大きいライン電圧について、2つの半分は直列に接続されている。これらの別の接続は「パーソナリティ」プラグ550を通して達成される。

【0191】フィルムヒータゾーンのためのAC電力供給はライン559であり、そして加熱されたカバーのためのAC供給はライン560を経る。ゼロ交差検出器566は、ライン518上のAC電力の各ゼロ交差においてライン568上にパルスを放射することによって、バイアスシステムのタイミングを提供する。ゼロ交差検出器はアナロググラウンドに対して参照される「ナショナル LM 311N」であり、そして25mVのヒステリシスを有する。ゼロ交差検出器はトランス516からその入力をとり、そしてトランス516は0~240ボルトのACのAC入力信号について0~5.52ボルトの出力AC信号を出力する。

【0192】電力トランス570はAC電力をポンプ41に供給し、そしてポンプ41はランプ冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルを通して冷却液を送る。冷却装置40は、また、そのAC電力をトランス570からパーソナリティプラグ550の他の部分を経て受けとる。トランス550は、また、3つの調整された電力供給572, 498および574および1つの非調整電力供給576に電力を供給する。

【0193】温度を測定する正確な目的のために、較正電圧発生器506は1系列の非常に精確な薄いフィルムの超低温度のドリフト $20\text{K}/\text{h}\cdot\text{m}$ の抵抗器(図47及び図48には示さない)を使用する。これらの同一の超低ドリフト抵抗を使用して、アナログ増幅器578のゲインをセットし、そしてアナログ増幅器578はデジタル値への変換前に選択した温度センサーからの出力電圧を増幅する。これらの抵抗器はわずかに $5\text{ppm}/^\circ\text{C}$ ドリフトするだけである。

【0194】すべての温度センサーは、それらを(それらが温度を測定する構造体から分離されている)をまず安定な攪拌された油の温度記憶の浴の中に 40°C において配置し、そしてマルチブレクサ492への入力において実際のオプチクス電圧を測定することによって較正される。次いで、温度センサーを 95°C の温度の浴の中に配置し、そしてそれらの出力電圧を再び同一点において測定する。較正電圧発生器494の出力電圧は、また、

61

マルチプレクサ494の入力において測定される。各温度について、温度センサーの出力の各と較正電圧発生器506により発生した電圧から生ずるデジタル出力との間のA/Dコンバータからのデジタル出力の差を測定する。次いで、温度変化について各々を較正するための各温度センサーのために較正定数を較正することができる。

【0195】次いで、試料ブロックの温度センサーをそれ以上の較正手順にかける。この手順は試料ブロックを2つの異なる温度に推進することを包含する。各温度レベルにおいて、16の異なる試料ウェル中のブロックの実際の温度は、16のRTD熱電対のプローブを使用して0.02°C内で測定する。次いで、ブロックの温度についての平均のプロファイルを発生させ、そしてA/Dコンバータ464の出力は試料ブロック中のその場所においてブロック温度センサーを使用して測定する。これは両者の温度レベルにおいて実施する。RTDプローブで測定した実際のブロック温度およびブロック温度センサーのためのA/D出力について、それ以上の較正ファクターを計算することができる。そのように発生した温度の較正はバッテリーバックアップRAM458の中に記憶される。いったんこれらの較正ファクターがシステムのために決定されると、システムは較正の時に存在する電気的特性から認めうるほどドリフトしないことが重要である。したがって、低いドリフトの回路を選択し、そして超低ドリフト抵抗器を使用することが重要である。

【0196】CPU450が試料ブロック温度を制御する方法は、制御プログラムについて下に記載する選択を参照することによって最もよく理解することができる。しかしながら、図47及び図48の電子回路が制御ソフトウェアと共に動作してPCRプロトコルを実施する方法を例示するために、次を考慮する。ゼロ交差検出器566は出力バス568の中に2つの出力を有する。これらの出力の1つは、ゼロ電圧参照を横切るAC信号の各ポジティブに行く転移についてネガティブに行くパルスを放射する。他のものはゼロ参照電圧レベルを横切るAC信号の各ポジティブに行く転移についてネガティブパルスを放射する。これらの2つのパルス、典型的には580で示す、は1つの完全なサイクルまたは2つのハーフサイクルを定める。それは200ミリ秒の試料の期間を定めるバス568上のパルスのトレインである。米国におけるような60サイクル/秒のACについて、200ミリ秒は24のハーフサイクルを含有する。

【0197】典型的なシステム期間は図50に示す。図50中の各「チック」マークは1つのハーフサイクルを表す。各200ミリ秒の試料期間の間、CPU450はユーザが定めた設定点またはインキュベーション温度に試料ブロック温度を維持するために、あるいはPCRプロトコルの時間ラインにおいて特定の試料期間が存在する場所に依存する新しい温度にブロック温度が動かすた

62

めに、必要な加熱または冷却の電力を計算している。各フィルムヒータゾーンにおいて必要な電力のマットは、各ヒータゾーンを次の200ミリ秒の試料期間の間に止まるハーフサイクルに変換される。これらの計算を実施する現在の試料期間の終わり直前に、CPU450はプログラム可能な間隔タイマ(PIT)472中の4タイマの各々をアドレスする。各タイマに、CPUはハーフサイクルの数を表す「現在」カウントを構成するデータを書き、そのタイマに関連する次の試料期間の中に止まる。図50において、このデータは次の試料期間の開始時間592に直前間隔590の間にタイマに対して書きられる。94°Cの変性温度までの急速なランプが、時間592と594との間の試料の間隔を包含する間隔についてのユーザの設定点データにより要求されると仮定する。したがって、フィルムヒータはその期間のほとんどについてオンであろう。中央のゾーンヒータが試料期間の間の3つのハーフサイクルを除外してすべてについてオンであると仮定する。この場合において、CPU450は、間隔590の間の中央のゾーンヒータに関連するPIT472中のカウンターの中に3を書く。この書く操作は自動的にタイマに、中央のゾーンヒータを制御するバス592の特定の制御ライン上の「シャットオフ」信号を発生させる。この「シャットオフ」信号はPAL484に、中央のゾーンに関連するバス538中の信号ラインの特定の1つ上に「シャットオフ」信号を発生させる。次いで、トライアックドライバー530は次のゼロ交差、すなわち、時間592においてシャットオフする。PITはライン594上のポジティブゴーイングパルスのパルスのトレインをPAL484から受けとる。これらのパルスはPAL484による2ラインバス568上でゼロ交差パルスの、PAL484によりすべてのゼロ交差パルス上のポジティブゴーイングパルスおよび单一のライン、すなわち、ライン594上のすべてのゼロ交差においてポジティブゴーイングパルスへの翻訳である。中央フィルムヒータゾーンに関連するPIT472中のタイマは、そのクロックとしてライン594上のハーフサイクルマーキングパルスを使用して3のその現在のカウントからカウントダウンを開始する。第3ハーフサイクルの終わりにおいて、このタイマは0に到達し、そしてバス592上のその出力信号が状態を変化するようにさせる。このオフからオンへの状態の転移は図50に596で示されている。この転移はPAL484に伝えられ、これによりPAL484はバス538上の適当な出力信号の状態を変化させて、第3ゼロ交差でトライアックドライバー530をオンにスイッチする。好みの実施態様におけるようにゼロ交差でトライアックをオンにスイッチすることによって、インジケータ(フィルムヒータの導体)を通して流れる高い電流のオフのスイッチングは回避されることに注意すべきである。これはラジオ周波数のインターフェレンスまたは他のノイ

ズの発生を最小にする。各ハーフサイクルの位置を要求される電力の計算量に従いフィルムヒータにスイッチする技術は、また、別の実施態様として働くが、この技術により発生するノイズのために好ましくないことに注意すべきである。

【0198】PIT472および474の他のタイマーは、同様な方法において、働いて、他のヒータゾーンおよび加熱されたカバーへ加えられる電力をCPUにより計算された電力に従い管理する。ランプ冷却は周辺インタフェース482を通して直接CPU450により制御される。各試料期間の間に実施された加熱／冷却電力の計算がランプ冷却電力を必要とすることを示したとき、CPU450は周辺インタフェース制御装置（PIC）482をアドレスする。次いで、データワードは適当なレジスタの中に書かれて出力ライン600を高く推進する。この出力ラインは1対の単安定マルチバイブレータ602および604をトリガし、これにより各マルチバイブルータは、それぞれ、ライン606および608上の単一のパルスを放射する。これらのパルスの各々は、ちょうど1アンペアおよびほぼ100ミリ秒のパルス期間の下でピーク電流を有する。これらのパルスの目的は、ランプ冷却流れを急速にオンにすることが非常に困難であるランプ冷却チャンネルを通る流れを制御するソレノイド弁コイルを推進させることである。ライン606上のパルスは、ドライバー610に、ソレノイド作動弁の1つのソレノイドコイルの1つの側に連結されたライン612を接続させる。コイル614の他方の端末は電力供給576からの+24ボルトのDCで電力供給「レール」616に連結されている。ワンショット602は1つの方向の流れのためのランプ冷却ソレノイド作動弁を制御し、そしてワンショット604は反対方向の流れのためのランプ冷却ソレノイド作動弁を制御する。

【0199】同時に、ライン600上のRCOOL信号の活性化はドライバー618を活性化する。このドライバーは電流制限抵抗620を通してライン612を接続させる。この電流制限抵抗の値は、ライン622を通して流れる電流がソレノイド弁614を開かせて保持するために必要な保持電流に少なくとも等しいような値である。ソレノイドコイルは、ソレノイド作動弁をオンするために大きい電流を必要とするが、弁を開かせて保持するためには実質的に少ない電流を必要とするという特性を有する。ライン606上の100ミリ秒のパルスが止んだとき、保持電流のために抵抗器620およびドライバー618を通る接続のみを残して、ライン612を直接接続させる。

【0200】ソレノイド弁614は1/2ランプ冷却管、すなわち、試料ブロックを通して1つの方向に冷却液を運ぶ管、のみにおいて試料ブロックを通るランプ冷却冷却液の流れを制御する。他のソレノイド作動弁624は、対向する方向で試料ブロックを通る冷却液の流れ

を制御する。この弁は、ドライバー626および628、ワンショット604およびライン608により、ソレノイド作動弁614と正確に同一の方法で駆動される。

【0201】ランプ冷却の必要性は試料期間毎に1回評価される。ブロック温度を測定しそしてそれをランプ冷却がもはや必要ではない所望のブロック温度と比較することによって、制御ソフトウェアのPIDタスクが決定されたとき、ライン600上のRCOOL信号が不活性化される。これは、CPU450により、PIC482をアドレスし、そしてライン600に連結されたPIC482中のレジスタ中の適当なビットの状態を逆転するデータをそれに書き込むことによって実施される。

【0202】PIT474は、また、2つの他のタイマーを有し、これらは20Hzの割り込みおよび加熱LED加熱を計時し、加熱LEDは試料ブロックが熱くそして接触に危険であるときを視的指示を与える。システムは、また、ビーパーワンショット630およびビーパー632を含んで、不正確なキーストロークがなされたときをユーザに警告する。

【0203】プログラム可能な割り込み制御装置476を使用して、レベル1—テスト；レベル2—20Hz；レベル3—トランスマット・レディ；レベル4—レシーブ・レディ；レベル5—キーボード・割り込み；レベル6—メインヒータ・ターンオン；および、レベル7—ACラインのゼロ交差からなる7の割り込みを検出する。プログラム可能な割り込み制御装置482は、マルチブレクサ492および494を制御するための4つの出力（図示せず）を有する。これらの信号「MUX1_E_N」および「MUX2_E_N」は、マルチブレクサ492および494の一方または双方を使用可能とするが、信号「MUV0およびMUV1は増幅器578への入力にどのチャンネルを選択するかを制御する。これらの信号は、2つのマルチブレクサからの1つのチャンネルのみを任意の1つの時間に選択できるように管理される。

【0204】「RLTRIG*」信号は、CPUがクラッシュする場合PAL484への信号「TIMEOUTEN*」の活性化を経てヒータを無能化するヒータのタイミングアウトワンショット632をリセットする。すなわち、ワンショット632は、すべてのヒータゾーンを無能化する信号「TIMEOUTEN*」をそれが活性化する前に、各トリガ後、それが待つ前以て決定した間隔を有する。CPU450はルーチンを周期的に実行し、これはPIC482をアドレスしそしてデータを適当なレジスタに書き込んで、ライン634上の信号を活性化してワンショット632をトリガする。CPU450がなんらかの理由で「クラッシュ」しそしてこのルーチンを実行しない場合、タイルアウトワンショット632はすべてのヒータゾーンを無能化する。

【0205】PIC482は、また、加熱されたカバー

および試料ブロックのヒータを無能化するための出力「COVHTR EN*」および「BLKHTREN*」(図示せず)を有する。これらの信号の両者は低く活性化し、そしてそれらはバス636を経るPAL484へ出力される。PIC482は、また、信号「BEEP」および「BEEPCLR*」をバス640上に出力してビーパーワンショット630を制御する。

【0206】PIC482は、また、信号「MEM1」(図示せず)を出力し、この信号はEPROM456の高いアドレス区画とバッテリーRAM458の低いアドレスとの間のページをスイッチするために使用される。2つの他の信号「PAGESEL0」および「PAGESEL1」(図示せず)は出力されて、EPROM456中の4つの16Kページの間を選択する。

【0207】4つの温度センサーは、10mV/°Kのゼンナー電圧/温度依存性をもつナショナルLM135ゼンナーダイオード型のセンサーである。ゼンナーダイオードは20Kの抵抗器496を通して調整された電力供給498から推進される。ゼンナーを通る電流は、0°C~100°Cの操作範囲にわたってほぼ560μA~615μAの間で変化する。ゼンナーそれ自体の加熱は、同一範囲にわたって1.68mW~2.10mWの間で変化する。

【0208】マルチブレクサ492および494はDG409アナログスイッチである。ライン488および490上の電圧は、 $V_{out} = 3 * V_{in} - 7.5$ の移動関数をもつAD625KN計器増幅器により増幅される。0°C~100°Cにわたって2.73~3.73のゼンナー温度センサーの出力で、増幅器578の出力は0.60ボルト~3.69ボルトであり、これはA/D入力範囲内にきっちりに入る。

【0209】高度に正確なシステムの実施に対する重要なことは、すぐれた精度および周囲温度の変化によるドリフトが低いことである。これらの目標の両者は、正確な電圧参照源、すなわち、較正電圧発生器506を使用し、そして、温度センサーの出力およびライン510上のACライン電圧をモニターするために使用されるのと同一のエレクトロニクスのチェインを通るその出力を連続的にモニターすることによって達成される。

【0210】較正電圧発生器506はライン650および652上に2つの正確な電圧を出力する。一方の電圧は3.75ボルトであり、そして他方は3.125ボルトである。これらの電圧は、抵抗器間の0.05%の合致および抵抗器間の5ppm/°Cの温度ドリフトをもつ、1ストリングの超低ドリフトの統合された薄いフィルムの抵抗器を使用して、調整された供給電圧を分割することによって得られる。較正電圧発生器は、また、A/Dコンバータ参照電圧について-5ボルトおよび計器増幅器オフセットについて-7.5ボルトを発生する。これらの2つの電圧はライン(図示せず)によりA/D48

6および増幅器578に伝えられる。これらの負の電圧は、同一薄いフィルムの参照電圧のネットワークおよびOP27GZオペアンプ(図示せず)を使用して発生される。操作増幅器578のためのゲイン設定抵抗器は、また、超低ドリフトの薄いフィルムの統合された合致抵抗器である。

【0211】制御ファームウェア、制御エレクトロニクスおよびブロックの設計は、PCRプロトコルのウェル対ウェルおよび計器対計器の輸送性が可能であるように10設計される。高い処理の実験室は、実験室の人員の広いスペクトルについて使用容易であり必要とする訓練が最小である計器から利益を得る。本発明のためのソフトウェアは、複雑なPCRサーモサイクリングのプロトコルを取り扱うと同時にプログラムが容易であるように開発された。さらに、それは電力の中断の間の試料の統合性を保証するような安全装置をもって提供され、そして安全な記憶装置の中に各ランの詳細な事象を書き込むことができる。

【0212】システムが適切に作動していることを保証するため、図54~図57に示したパワーアップ自己検査を完結した後、本発明のユーザのインターフェースは、ファイルを実行し、つくりまたは編集し、またはユーティリティファンクションをアクセスするようにユーザーを招待する、簡単なトップレベルのメニューを提供する。プログラミングの技能は要求されない。なぜなら、前以て存在する不足のファイルは個別化した時間および温度を使用して編集し、次いで後の使用のために記憶装置に記憶することができるからである。ファイルは、通常、所望の温度を保持するか、あるいはサーモサイクリングするための命令の組から成る。複雑なプログラムはファイルと一緒にリンクしてある方法を形成することによってつくられる。普通に使用されるファイル、例えば、サーモサイクル後の4°Cインキュベーションは、他のユーザにより、記憶され、そして方法に組み込むことができる。新しい型のファイル、AUTOファイルは、パラメータの制御にいくつかの型の変化のどれが各サイクル：時間の増加(オートセグメントの伸長、収率の増大するため)、時間の減少、または温度の増加または減少、を起こすかを特定できるようにする、PCRサイクリングのプログラムである。最高の制御の精度および最も信頼性がある方法の転移のために、温度は0.1°Cに安定であり、そして時間は最も近い秒にプログラミングされる。本発明は、ランの間の1または2以上の設定点で特定したサイクルにおける試薬の添加および管の取り出しのための、計画を立てたPAUSEをプログラミングする能力を有する。

【0213】本発明のシステムは、各ランのための500の記録履歴を記憶する能力を有する。この特徴により、各サイクルにおいて個々のステップを概観し、そして不規則性に関する特別の状態または誤ったメッセージ

ジをフラッグすることができる。オプショナルのプリンタを使用して、本発明はファイルおよび方法のパラメータ、時間／日付のスタンプをもつラン一時間時間／温度のデータ、形状のパラメータ、および分類されたファイルのディクショナリーのハードコピーのドキュメンテーションを提供する。

【0214】再現性あるサーモサイクリングを保証するために、計算した試料の温度は各サイクルのランプおよび保持セグメントの間に表示される。セットした温度より1°低い温度を通常使用してランプ一時間および保持一時間のクロックをトリガするが、これはユーザにより変更されることがある。管の型および体積についての適切な時間を使用すると、試料は、常に、長いまたは短いインキュベーション時間がプログラミングされるかどうかに無関係に、同一精度で所望の温度に到達する。ユーザは変性されたプライマーの特殊化されたアニーリングの要件、または非常にGCに富んだ標的のための非常に短い(1~5秒)高度の変性についてゆっくりしたランプをプログラミングすることができる。知能の欠乏は2および3温度のPCRサイクルについて前以てプログラミングされる。

【0215】診断テストをアクセスして、加熱および冷却のシステムの状態をチェックすることができる。なぜなら、ソフトウェアはPass/Failのレポートを与えるからである。さらに、システム実行のプログラムは包括的なサブシステムの評価を実施し、そして要約の状態のレポートを発生する。制御ファームウェアは、以下に列挙するいくつかのセクションから構成される：

- 診断
- 調整
- 導入
- 実時間オペレーション
- システムを管理する9つの優先化タスク
- スタートアップシーケンス
- ユーザのインターフェース

ファームウェアの種々のセクションを、テキスト的な記述、擬似符号または両者で記述する。

【0216】ファームウェアの特徴は、次の通りである：

1. 平均試料ブロック温度を+/-0.1°Cに管理しながらびに試料ブロック中のウェルの間のような温度の不均一性を+/-0.5°C内に維持する制御システム。
2. ライン電圧の変動およびエレクトロニック温度ドリフトを測定および補償する温度制御システム。

【0217】3. システムの成分が働いているかどうかを決定する広範なパワーアップ診断。

4. 加熱および冷却のシステムが適切に働いているかを評価する導入プログラムにおける包括的な診断。
5. オペレーターのメニューへの依存性を最小にして計器のオペレーションを可能とするメニュー推進システム

を使用する、論理および有機化されたユーザのインターフェース。

【0218】6. 17までのPCRプロトコルをリンクしそしてそれらを1つの方法として記憶する能力。

7. 150までのPCRプロトコルおよび方法をユーザのインターフェースの中に記憶する能力。

8. シーケンスタスクの一部分として前のランの500までの事象をレコードする履歴ファイル。

【0219】9. 最大の温度の精度および制御のためにランの開始の反応体積および管の大きさ型をユーザのインターフェースの一部分として定めそしてPIDタスクにおけるタウ(管の時間定数)を変更する能力。

10. 電力破壊から回復したとき、システムは試料ブロックを4°Cに推進して、試料隔室の中に負荷できる試料を救う。アナライザーは、また、シーケンスタスクの一部分として電力破壊の期間をレポートする。

【0220】11. 履歴ファイルの内容、「ラン時間」パラメータおよび記憶されたPCRプロトコルのパラメータをプリントタスクのパラメータとしてプリントする能力。

下に記載する診断のいくつかのレベルが存在する：1系列のパワーアップテストは、計器がオンにされる毎に、自動的に実施する。それらはユーザの介在なしにハードウェアのクリティカル領域を評価する。成分の故障を検出するテストを再び実行することができる。テストが2回失敗した場合、エラーのメッセージは表示され、そしてキーボードは電子的にロックされて、ユーザが続けるのを防止する。

【0221】次の領域をテストする：プログラム可能な周辺インターフェース装置、バッテリーRAM装置、バッテリーRAM検査合計、EPROM装置、プログラム可能なインターフェースタイム装置、クロック／カレンダー装置、プログラム可能なインターフェース制御装置、アナログ対デジタルセクション、温度センサー、適切な構成プラグの検証。

【0222】1系列のサービスオンリー診断は、製造業者の場所における最後のテスターにおいて「隠れた」キーストロークシーケンス(すなわち、カスタマーに未知の)によるフィールドサービスエンジニアにとって利用可能である。テストの多くは、99回まで連続的に実行することができる以外、診断を開始するときのテストと同一である。

【0223】次の領域をテストする：プログラム可能な周辺インターフェース装置、バッテリーRAM装置、バッテリーRAM検査合計、EPROM装置、プログラム可能なインターフェースタイム装置、クロック／カレンダー装置、プログラム可能なインターフェース制御装置、アナログ対デジタルセクション、RS-232セクション、ディスプレイセクション、キーボード、ビーバー、ランプ冷却弁、EPROM不一致のチェック、ファーム

ウェアのバージョンレベル、バッテリーRAM検査合計および初期化、自動開始プログラムフラグ、較正フラグのクリア、加熱されたカバーヒータおよび制御回路、ヘリヒータおよび制御回路、製造のヒータおよび制御回路、中央ヒータおよび制御回路、試料ブロックの熱的カットオフテスト、加熱されたカバーの熱的カットオフテスト。

【0224】ユーザの診断を、また、使用して急速な冷却および加熱のランプの検証および加熱および冷却システムの広範な確証を実施することができる。これらの診断、また、使用して、前のランにおいて起こった事象の順次のレコードである、履歴ファイルを見ることができる。レコードは、時間、温度、設定点の数、サイクルの数、プログラムの数および状態のメッセージを含有する。

【0225】遠隔診断を使用して、RS-232ポートを経る外部のコンピュータからのシステムを制御することができる。制御はサービスの診断および計器の較正のみに限定される。種々のプライマー、例えば、ヒータの抵抗などを決定するための較正を実施する。較正スクリーンに対してアクセスは、「隠れた」キーのシーケンス（すなわち、カスタマーに未知である）により限定される。次のパラメータを較正する：構成プラグは、冷却装置、試料ブロックヒータ、冷却液ポンプおよび適切な電圧および周波数（100V/50Hz、100/60Hz、120/60Hz、220/50Hzまたは230/50Hz）のための電力供給を再配線するモジュールである。ユーザは導入した構成プラグの型を入力する。ファームウェアはこの情報を使用して試料ブロックのヒータの同等の抵抗を計算する。パワーアップすると、システムは選択した構成プラグが電流ラインの電圧および周波数と一致することを検証する。

【0226】ヒータの抵抗は、供給されるヒータ電力の正確な較正を実施できるように、較正プロセスにおいて決定しなくてはならない。ユーザは6つの試料ブロックヒータ（2つの主ヒータ、2つのマニホールドヒータおよび2つのヘリヒータ）の実際の抵抗を入力する。構成プラグはヒータを220～230VACオペレーションについて直列におよび100～120VACオペレーションについて並列に配線する。ファームウェアは、次の式により3つのヒータの各々の同等の抵抗を計算する：

$$(7) 100 \sim 120 \text{ VAC} \text{ について: } R_{eq} = (R_1 * R_2) / (R_1 + R_2)$$

$$(8) 220 \sim 230 \text{ VAC} \text{ について: } R_{eq} = R_1 + R_2$$

同等の抵抗を使用して試料ブロックへの加熱電力の正確な量を誘導する（電力=電圧² × 抵抗）。

【0227】A/D回路の較正は、温度が正確に測定できるようにするために必要である。これは2つのテスト点の電圧（CPUボード上のTP6およびTP7）を測

定し、そして測定した電圧を入力することによって実施される。各電圧におけるA/Dの出力は2点の検量線の基礎を形成する。これらの電圧は5ボルトの精度の源から誘導され、そして正確でありそして温度依存性である。各ランの開始において、これらの電圧は温度のための電子的ドリフトを測定するシステムにより読まれる。なぜなら、A/D出力の変化はアナログチェイン（マルチプレクサ、アナログ増幅およびA/Dコンバータ）における温度依存性のためからである。

【0228】4つの温度センサー（試料ブロック、周囲、冷却液および加熱されたカバー）の較正は、正確な温度測定について実施される。計器の中への導入の前に、周囲、冷却液および加熱されたカバーの温度センサーは水浴の中に配置され、ここでそれらの出力は記録される（YYYYmVにおけるXX.X°C）。次いで、これらの値をシステムに入力する。これらの領域における温度の精度はクリティカルではないので、1点の検量線を使用する。

【0229】試料ブロックのセンサーを計器中で較正する。15の正確な温度プローブの列は、好みの実施様において試料ブロックの中に戦略的に配置する。温度プローブの出力を集め、そしてコンピュータにより平均する。ファームウェアはブロックに40°Cに行くように命令する。短い安定化期間後、15プローブにより読まれるものとして平均のブロック温度を入力する。この手順を95°Cにおいて反復して2点の検量線を形成する。

【0230】AC対DCライン電圧のサンプリング回路の較正は、2つの所定のAG入力電圧についてのAC対DC回路の出力をシステムに入力し、2点の検量線を形成することによって実施する。回路の出力は要求される範囲（90～260VAC）にわたって非直線であり、したがって各端において2点（100および120、220および240VAC）を必要とし、そして電流入力電圧に基づいて1セットを使用する。

【0231】AC電圧の正確な測定値は正確な量の電力を試料ブロックへ供給するために必要である（電力=電圧² × 抵抗）。導入プログラムは、冷却および加熱システムの広範なテストを実施する診断道具である。導入の測定値および計算値は、冷却コンダクタンス、10°Cおよび18°Cにおけるランプ冷却コンダクタンス、10°Cおよび20°Cにおける冷却電力、試料ブロックの熱的および冷却液の容量および試料ブロックのセンサー遅れを制御する。導入の目的は3倍である：

1. 限界のまたは故障の成分を暴露する。

【0232】2. 測定された値のいくつかをバッテリーバックアップRAMの中に記憶されたシステム定数として使用して、所定の計器についての制御システムを最適化する。

3. 経時的加熱および冷却システムの規模縮小を測定する。

システムを輸送する前に、導入を実行しそして、また、使用前にまたは主要な成分が置換されたときはいつでも、実行すべきである。導入プログラムは、また、ユーザーの診断の下でユーザーにより実行することができる。

【0233】ヒータのピングテストは、ヒータが電流ライン電圧のために適切に構成されることを検証する（すなわち、90～132VACについて並列および208～264VACについて直列）。ファームウェアは1バーストの電力を試料ブロックに供給し、次いで10秒の時間期間にわたる温度上昇をモニターする。温度上昇が特定したランプ速度のウインドーの外側にある場合、ヒータは電流ライン電圧について不正確に配線され、そして導入プロセスは停止される。

【0234】制御冷却コンダクタンステストは試料ブロックを横切る制御冷却パッセージへの熱コンダクタンス K_{cc} を測定する。このテストはまず試料ブロック温度を 60°C に推進し（ランプ弁を閉じる）、次いでブロックを 60°C に 30 秒の時間期間にわたって維持するために要求されるヒータ電力を積分する。積分された電力を間隔にわたるブロック温度と冷却液温度との間の差の合計で割る。

$$(9) K_{cc} = \Sigma \text{ヒータ電力} (60^\circ\text{C}) / \Sigma (\text{ブロック} - \text{冷却液温度})$$

典型的な値は 1.40～1.55 ワット/°C である。低い K_{cc} はライナーの詰まりを示す。高い K_{cc} は完全に閉じていないランプ弁、ライナーの直径の外側への冷却液の漏れ、またはシフトしたライナーのためであることがある。ブロックの熱容量 (B_{lk} C_p) テストは、まずブロックを 35°C に制御し、次いで最大電力をヒータへ 20 秒間加えることによって、試料ブロックの熱容量を測定する。試料ブロックの熱容量は、積分された電力 / ブロック温度の差に等しい。精度を増加するために、バイアス冷却の電力の作用は増加された電力から減ずる。

$$(10) B_{lk} C_p = \text{ランプ時間} * (\text{ヒーター制御冷却電力}) / \Delta \text{温度}$$

ここで、

ランプ時間 = 20 秒、

ヒータ電力 = 500 ワット、

$$\text{制御冷却} = (\Sigma \text{ブロック} - \text{冷却液温度}) * K_{cc}$$

Δ 温度 = $T_{Block,20} - T_{Block,0}$

$B_{lk} C_p$ の典型的な値は 540 ワット一秒 / °C ± 30 である。正常の K_{cc} 値を仮定するとき、ブロックの熱容量の増加は熱的負荷、例えば、フォームのバックティング中の湿気、試料ブロックの回りの絶縁損失、またはヒータ電力の減少、例えば、6 のヒータゾーンの 1 つの故障またはヒータゾーンを推進する電子回路の故障、または不正確さまたは不正確に配線されている電圧構成モジュールのためである。

【0235】冷却テストは 10°C および 18°C における

システム冷却出力（ワット）を測定する。所定の温度におけるシステム冷却電力または冷却出力は、その温度における熱的負荷の合計に等しい。主な成分は次の通りである：1. 所定の温度にブロックを維持するために要求される加熱電力、2. システムの回りに冷却液を循環させるために使用するポンプが消費する電力、および 3. 周囲への冷却液ライン中の損失。電力パラメータは、冷却液の温度を 10°C または 18°C に制御し、そして 32 秒の間隔にわたって一定の冷却液温度に維持するために加えられる積分することによって測定される。ブロック温度と冷却液温度との間の差は、また、積分して周囲温度への損失をクリアする。

$$(11) \text{冷却温度} = \Sigma \text{加熱電力} + \text{ポンプ電力} + (K_{amb} b * \Sigma (b_{lk} - cool_temp))$$

ここで、

加熱電力 = 冷却液を 10°C または 18°C に 32 秒の時間にわたって維持するために要求される加熱電力の合計、ポンプ電力 = 循環ポンプ、12 ワット、

$$K_{amb} b = \text{周囲へのコンダクタンス}、20 \text{ ワット}/^\circ\text{C}、$$

$$b_{lk} - cool_temp = 32 \text{ 秒の時間にわたるブロックおよび冷却液温度の差の合計}。$$

【0236】冷却電力のための典型的な値は、10°Cにおいて 230 ワット ± 40 および 18°Cにおいて 370 ワット ± 30 である。低い冷却電力は、ファン通路の障害、欠陥のあるファン、または冷却装置の限界のまたは故障のためである。それは、また、電圧構成プラグの配線の誤りであることがある。ランプ冷却コンダクタンス (K_c) テストは、10°C および 18°C における試料ブロックを横切るランプおよび制御冷却通路への熱コンダクタンス (K_c) を測定する。このテストは、まず冷却液温度を 10°C または 18°C において制御し、次いで、30 秒の時間の間隔にわたって、所定の温度に冷却液を維持するために要求される加熱電力 / その時間にわたるブロック温度および冷却液温度の差を積分することによって実施される。

$$(12) K_c = \Sigma \text{加熱電力} / \Sigma (\text{ブロック} - \text{冷却液温度})$$

K_c について典型的な値は 10°C において 28 ワット / °C ± 10°C および 18°C において 31 ワット / °C ± 3 である。低い K_c は閉じたまたは障害されたランプ弁、キンクした冷却液管、弱いポンプまたは硬水 / プレストン（登録商標）混合物のためであることがある。

【0237】センサー遅れテストは、まずブロック温度を 35°C に制御し、次いで 500 ワットのヒータ電力を 2 秒間加え、そしてブロックを 1°C 上昇するために要求される時間を測定することによって、ブロックセンサー遅れを測定する。典型的な値は 13～16 単位であり、ここで各単位は 200 ミリ秒に等しい。遅いまたは長いセンサー遅れは、センサーとブロックとの間の劣った界面、例えば、熱的グリースの欠如、センサーのキャビテ

イの劣った機械加工またはセンサーの故障のためであることがある。

【0238】残りの導入テストは現在導入プログラムにより実行されるが、それらは計算された値であるか、あるいは多数の変数をもつので、それらの結果が問題の源を正確に決定しない関数であるという事実のために、制限された診断の目的を有する。導入プログラムは18°Cと10°Cとの間のランプ冷却コンダクタンス(S_c)の勾配を計算する。それはコンダクタンス曲線の直線性の測度である。それは、また、0°Cにおけるランプ冷却コンダクタンスを概算するために使用する。典型的な値は 0.40 ± 0.2 である。値の広がりは、それがちょうど近似値であるという事実を証明する。

$$(13) S_c = (K_{c,18^\circ} - K_{c,10^\circ}) / (18^\circ - 10^\circ)$$

導入プログラムは、また、冷却コンダクタンス $K_{c,0}$ を計算する。 $K_{c,0}$ は0°Cにおける冷却コンダクタンスは10°Cにおける実際のコンダクタンスから外挿される。典型的な値は23ワット/°C±5である。使用した式は次の通りである：

$$(14) K_{c,0} = K_{c,10} - (S_c * 10^\circ C)$$

導入プログラムは、また、冷却液容量(C_{ool,C_p})を計算し、この冷却液容量は全体の冷却液の流れ(冷却液、ポンピングライン、熱交換器、および弁)の熱容量の近似値である。冷却容量は、冷却液の中に熱を送る成分-冷却液から熱を除去する成分に等しい。これらの成分を測定しそして計算するために使用した機械は複雑であり、そして源コードの説明のセクションにおいて詳細に記載する。この測定において、冷却液は10°Cにおいて安定化されることができる。最大ヒータ電力を128秒間試料ブロックに加える。

$$(15) C_{ool,C_p} = \text{加熱源} - \text{冷却液源}$$

$$(16) C_{ool,C_p} = \text{加熱電力} + \text{ポンプ電力} + K_{amp} * (\sum T_{amp} - \sum T_{cool}) \\ - Block_Cp * (T_{block,0} - T_{block,128}) \\ - T_{block,0} \text{ と } T_{block,128} \text{ との間の平均冷却電力}$$

{ } 内に囲まれた文字は源コードにおいて使用した可変の名前を示す。

ヒータピンテスト擬似コード：ヒータピンテストは、ヒータが電流ライン電圧のために適切に配線されていることを検証する。

【0239】試料ブロックおよび冷却液を既知のおよび安定な点にする。

ランプ冷却弁をオンにする

ブロックおよび冷却液が5°C以下になるのを待つ

$$\{dt_sum\} = 0$$

$$\{main_pwr_sum\} = 0 \quad (\text{主ヒータ電力の合計})$$

$$\{aux_pwr_sum\} = 0 \quad (\text{補助ヒータの電力の合計})$$

ランプ冷却弁をオフにする

ブロック温度の低下を10秒の時間間隔にわたって測定することによって、制御冷却の冷却効果を測定する。測定を行う前に安定化のために10秒待つ。

10秒待つ

$temp1$ =ブロック温度

10秒待つ

$temp2$ =ブロック温度

$$\{tempa\} = temp2 - temp1$$

10実際に測定したライン電圧を含有する変数{ライン電圧}を検査する。190Vより大きいライン電圧について75ワットで、あるいは140Vより小さい場合300ワットでヒータをパルスする。

((ライン電圧)>190V)の場合、75ワットをヒータに供給する

そのほかに300ワットをヒータに供給する

10秒の時間の期間にわたる時間上昇を測定する。この結果は0.01°/秒の平均の熱速度である。

$temp1$ =ブロック温度

2010秒待つ

$temp2$ =ブロック温度

$$\{tempb\} = temp2 - temp1$$

制御冷却効果から平均加熱速度{tempb}を減じて真の加熱速度を計算する。

$$(17) heat_rate = \{tempb\} - \{tempa\}$$

heat_rateを評価する。220~230Vについて、加熱速度は0.30°/秒より小さくあるべきである。100~120Vについて、加熱速度は0.30°/秒より大きくあるべきである。(ライン電圧=220Vおよびheat_rate>0.30°/秒)である場合、

エラー->120について配線されたヒータ

ロックアップキーボード

(ライン電圧=120Vおよびheat_rate<0.30°/秒)である場合、

エラー->220について配線されたヒータ

ロックアップキーボード

KCCテスト擬似コード：このテストは K_{cc} としてまだ知られている制御冷却を測定する。

【0240】 K_{cc} は60°Cのブロック温度において測定した。ブロックを60°Cに推進する

ブロック温度を60°Cに300秒間を維持する

30秒の時間の期間にわたって試料ブロックのヒータに加えられている電力を積分する。ブロック温度を制御冷却バイアスで維持するために要求される電力を測定および積分する。

(デルタ温度の合計)

(主ヒータ電力の合計)

(補助ヒータの電力の合計)

75

(カウント=1~30)

{

{dt_sum} = {dt_sum} + (ブロック温度-冷却液温度)

1秒待つ

主ヒータおよび補助ヒータに加えられる電力を蓄積する。実際のコードはPID制御タスクにあり、したがって

```
{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + {actual_power}
{aux_pwr_sum} = {aux_pwr_sum} + {aux1_actual} + {aux2
    _actual}
}
```

電力の合計を温度の合計で割ることによってコンダクタンスを計算する。単位は10mV/°Cであることに注意する。

(18) $K_{cc} = (\{main_pwr_sum\} + \{aux_pwr_sum\}) / \{dt_sum\}$ BLOCK CP テスト擬似コード：このテストは試料ブロックの熱容量を測定する。ブロックを35°Cに推進※

500ワットを推進する

```
{dt_sum} = 0
(カウント=1~20秒)
{
    {dt_sum} = {dt_sum} + (ブロック温度-冷却液温度)
    1秒待つ
}
```

(19) $\text{delta_temp} = \text{ブロック温度} - \text{initial_temp}$

ランプの間に起こる制御冷却のための冷却電力のジュールを計算する。

(20) $\text{cool_joule} = \text{制御冷却コンダクタンス} (K_{cc}) * \{dt_sum\}$

主ヒータおよび制御冷却からブロックへ加えられる合計のジュールを計算する。間隔にわたる温度変化で割って熱容量を計算する。

(21) $\text{Block Cp} = \text{ランプ時間} * (\text{ヒータ電力} - \text{cool_joule}) / \text{delta_temp}$

ここで：ランプ時間=20秒

ヒータ電力=500ワット

COOL PWR 10：このテストは冷却電力を10°Cで測定する。冷却液温度を10°Cで制御し、そして120秒間安定化する。

カウント=120

(カウント!=0) の間実施する

{

(冷却液温度=10±0.5°C) の場合、

カウント=カウント-1

そのほかに

カウント=120

1秒待つ

}

この時点において、冷却液は10°Cに120秒間あり、

40

76

※する

ブロック温度を35°Cに5秒間を制御し、そして初期温度を制御する。

initial_temp=ブロック温度

最大電力をヒータに20秒間供給し、その間ブロック温度対冷却液温度の差ならびにヒータ電力を合計する。

そして安定化された。32秒にわたって、120°Cの冷却液温度を維持するために加えていた電力を積分する。

{cool_init} = 冷却液温度

{main_pwr_sum} = 0

{aux_pwr_sum} = 0

{delta_temp_sum} = 0

(カウント=1~32) について

{

主ヒータおよび補助ヒータ加えた電力を蓄積する。実際のコードは制御タスクにある。

【0241】

50

77

```

{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + actual_power
{aux_pwr_sum} = {aux_pwr_sum} + aux1_actual+aux2_actu
    al
delta_temp_sum = delta_temp_sum + (周囲温度-冷却液温度)
1秒待つ
}

```

積分間隔の間に冷却液質量に添加されたエネルギーのジユール数を計算する。「(冷却液温度 - cool_init)」は積分間隔の間の冷却液温度の変化である。550は冷却液のCp(ジユール)であり、こうして積はジユールである。それは冷却液に添加され余分の熱を表し、これは冷却液を積分間隔の間に設定点からドリフトさせる。このエラーは冷却液電力の計算前に加えられた合計の熱から減ずる。

(22) cool_init = (冷却液温度 - cool *

(24) Power10 °C = main_power_sum + PUMP PWR + (K_AMB * delta_te
mp sum)

ここで：

{main_pwr_sum} = 間隔にわたるヒータ電力の合計

PUMP PWR = 12ワット、冷却液を計算するポンプ

delta_temp_sum = 間隔にわたる周囲-冷却液合計

K_AMB = 20ワット/K、冷却から周囲への熱的コンダクタンス

KC_10 テスト擬似コード：このテストはランプ冷却コンダクタンスを 10°C で測定する。

【0242】冷却液温度を 10°C ± 0.5 に制御し、そしてそれを 10 秒間安定化する。この時点において、冷※30

```

{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + actual_power
{aux_pwr_sum} = {aux_pwr_sum} + aux1_actual+aux2_actu
    al
{dt_sum} = {dt_sum} + (ブロック温度-冷却液温度)
1秒待つ
}

```

合計期間にわたってブロックに供給されたエネルギー(ジユール)を計算する。単位は0.1ワットである。

(25) {main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + {aux_pwr_sum}

電力合計をブロック温度-冷却液温度の合計で割って、ランプ冷却コンダクタンス (100mW/K) を得る。

(26) Kc_10 = {main_pwr_sum} / カウント=128

(カウント != 0) の間に実施する

{

(冷却液温度 = 18°C ± 0.5) の場合、カウント=カウント-1

そのほかに

カウント=120

1秒待つ

78

* init * 550 J

主電力の合計を補助ヒータの合計に添加して、32秒で消散したジユールを得る。32で割って平均ジユール/秒を得る。

(23) {main_pwr_sum} = ({main_pwr_sum} + {aux_pwr_sum} - cool_init) / 32
すべての冷却電力成分を合計することによって、10°C における冷却電力を計算する。

※冷却液は設定点にあり、そして制御されている。30秒の時間間隔にわたって、冷却液温度を 10°C に維持するためにヒータに加えられている電力を積分する。ブロック温度を冷却液温度との間の差を合計する。

```

{main_pwr_sum} = 0
{aux_pwr_sum} = 0
{dt_sum} = 0
(カウント=1~30)
{

```

主ヒータおよび補助ヒータに加えられる電力を蓄積する。実際のコードは PID 制御タスクにある。

【0243】

{dt_sum}

COOL_PWR テスト擬似コード：このテストは冷却電力を 18°C で測定する。

【0244】試料ブロックおよび冷却液を既知の安定な点にする。冷却液温度を 18°C で制御し、そして 128 秒間安定化する。

79

}

この時点において、冷却液は18°Cに120秒間あり、そして安定化した。32秒にわたって、18°Cの冷却液温度を維持するために加えられる電力を積分する。

```
{cool_init} = 冷却液温度
{main_pwr_sum} = 0
{aux_pwr_sum} = 0
{delta_temp_sum} = 0
(カウント=1~32) について
```

{

80

*る。実際のコードは制御タスクにある。

【0245】

主ヒータおよび補助ヒータに加えられる電力を蓄積す *

```
{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + actual_power
{aux_pwr_sum} = {aux_pwr_sum} + aux1_actual+aux2_act
ual
delta_temp_sum = delta_temp_sum + (周囲温度 - 冷却液温度)
1秒待つ
}
```

積分間隔の間に冷却液質量に添加されたエネルギーのジュール数を計算する。「(冷却液温度 - cool_init)」は積分間隔の間の冷却液温度の変化である。550は冷却液のCp(ジュール)であり、こうして積はジュールである。それは冷却液に添加され余分の熱を表し、これは冷却液を積分間隔の間に設定点からドリフトさせる。このエラーは冷却液電力の計算前に加えられた合計の熱から減ずる。

(27) cool_init = (冷却液温度 - cool_init) * 550 J

主電力の合計を補助ヒータの合計に添加して、32秒で消散したジュールを得る。32で割って平均ジュール/秒を得る。

(28) {main_pwr_sum} = ({main_pwr_sum} + {aux_pwr_sum} - cool_init) / 32
すべての冷却電力成分を合計することによって、18°Cにおける冷却電力を計算する。

(29) Poweris °C = main_pwr_sum + PUMP_PWR + (K_AMB * delta_temp_sum)
ここで：

{main_pwr_sum} = 間隔にわたるヒータ電力の合計

PUMP_PWR = 12ワット、冷却液を計算するポン※40

```
{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + actual_power
{aux_pwr_sum} = {aux_pwr_sum} + aux1_actual+aux2_actu
al
{dt_sum} = {dt_sum} + (ブロック温度 - 冷却液温度)
1秒待つ
}
```

合計期間にわたってブロックに供給されたエネルギー(ジュール)を計算する。単位は0.1ワットである。

(30) {main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + {aux_pwr_sum}

※ブ

delta_temp_sum = 間隔にわたる周囲 - 冷却液合計

K_AMB = 20ワット/K、冷却から周囲への熱的コンダクタンス

KC_18テスト擬似コード：このテストはランプ冷却コンダクタンスを18°Cで測定する。

【0246】冷却液温度を18°C±0.5に制御し、そしてそれを10秒間安定化する。この時点において、冷却液は設定点にあり、そして制御されている。30秒の時間間隔にわたって、冷却液温度を18°Cに維持するためにヒータに加えられている電力を積分する。ブロック

温度を冷却液温度との間の差を合計する。

```
{main_pwr_sum} = 0
{aux_pwr_sum} = 0
{dt_sum} = 0
(カウント=1~30)
{
```

主ヒータおよび補助ヒータに加えられる電力を蓄積する。実際のコードは制御タスクにある。

【0247】

電力合計をブロック温度 - 冷却液温度の合計で割って、ランプ冷却コンダクタンス(100mW/K)を得る。

(31) KC_18 = {main_pwr_sum} / {dt_sum}

50

81

SENLAGテスト擬似コード: このテストは試料ブロックのセンサー遅れを測定する。

【0248】ブロックを25℃に推進する。±0.2℃内に20秒間保持し、次いでブロック温度をレコードする。

{tempa} = ブロック温度

secs = 0

カウント = 0

(TRUE) の間に実施する

{

(secs >= 2秒) の場合、ヒータを遮断する

(ブロック温度 - tempa > 1.0℃) の場合、ループの間に出てる

カウント = カウント + 1

}

センサー遅れ = カウント

の間に実施する

冷却液Cpテスト擬似コード: このテストはシステム全体の冷却液容量を計算する。冷却液温度を10℃±0.5に安定化する。メッセージをPID制御タスクに送つて冷却液温度をその現在の値(約10℃)から18℃にランプする。冷却液が12℃を横切るを待って、冷却液CPランプが常に同一温度で開始し、そして明瞭に開始されたランピングを有するようにする。初期周囲およびブロック温度に注意する。

(冷却液温度<12℃) の間に実施する

{

1秒を待つ

}

{blk_delta} = ブロック温度

{h2o_delta} = 冷却液温度

次の2分間、冷却液温度が18℃にランピングする間、冷却液温度および周囲温度と冷却液温度との間の差を合計する。

{temp_sum} = 0

{cool_sum} = 0

(カウント1~128秒) について

{

(32) {cool_sum} = cool_temp_

sum + 冷却液温度

(33) {temp_sum} = 周囲 - 冷却液温度

※

1秒待つ

カウント = カウント + 1

}

2分の期間にわたる温度変化を計算する。

(34) {blk_delta} = ブロック温度 - {blk_delta}

(35) {h2o_delta} = 冷却液温度 - {h2o_delta}

KChill、すなわち、10℃~20℃の冷却液範囲にわたる冷却液温度をもつ冷却電力の変化速度を計算する。単位はワット/10℃であることに注意する。

(36) KChill = (18℃における冷却電力 - 10℃における冷却電力)

ランプ冷却コンダクタンス対18℃~10℃の温度範囲の勾配であるScを計算する。単位はワット/10℃/10℃である。

(37) Sc = (Kc_18 - Kc_10) / 8
Kc_0、0℃に外挿したランプ冷却コンダクタンス、を計算する。

(38) Kc_0 = Kc_10 - (Sc * 10)
Cp_Cool、冷却液のCp、を次の式により計算する:

$$(39) Cp_{Cool} = (HEATPOWER * 128 + PUMP_PWR * 128 - Pwr_0 * 128 - Block_Cp * blk_delta + K_AMB * temp_sum - KChill * cool_temp_sum) / h2o_delta$$

ここで、

HEATPOWER = 500W、ブロックを加温し、こうして冷却液を加熱するために加えたヒータ電力。熱

間隔は128秒であったので、それに128を掛ける、

PUMP_PWR = 12W、冷却液を循環させるポンプの電力×128秒、

P_{wr} $0^{\circ}\text{C} = 0^{\circ}\text{C}$ における冷却電力 $\times 128$ 秒、
 B_{lock} C_p = 試料ブロックの熱容量、
 b_{lock_delta} = 熱間隔にわたるブロック温度の変化、
 K_{AMB} = 20 ワット/ K 、冷却から周囲への熱的コンダクタンス、
 t_{emp_sum} = 間隔にわたる周囲温度 - 冷却液温度の1回/秒の合計、
 h_{2o_delta} = 加熱（ほぼ 6°C ）の間隔にわたる冷却液温度の変化、
 K_{Chill} = 冷却電力対冷却液温度の勾配、
 $cool_sum$ = 加熱間隔にわたる、冷却液温度、1回/秒、の合計。

実時間オペレーションシステム—CRETIN

CRETINは、タスクと呼ぶ他のソフトウェアのモジュールへシステムサービスを提供するスタンドアロン、マルチタスキングのカーネルである。タスクは Intel 18085 アセンブラーの中に書き込まれたある時間クリティカル領域をもつ「C」ランゲージで書き込まれる。各タスクはプライオリティレベルを有し、そして独立のファンクションを提供する。CRETINは、スタートアップ診断が首尾よく実行された後の、低い記憶およびランにある。CRETINはタスクのスケジューリングを取り扱い、そして一度に1タスク/ランのみを可能とする。CRETINは、すべてのハードウェアの割り込みを受けとり、こうして適切な割り込みが受けとられたとき、待つタスクを実行させる。CRETINは実時間クロックを提供して、タスクがタイムド事象を待つか、あるいは既知の間隔の間ポーズすることができるようにする。CRETINは、また、メッセージノードのシステムを通じてタスクのコミュニケーションを提供する。ファームウェアは、下にプライオリティの順序で下に簡単に記載する9つのタスクから構成されている。引き続くセクションは各タスクをより詳細に記載する。

【0249】1. 制御タスク (PID) は試料ブロック温度を制御する。

2. キーボードタスクはキーパッドからのキーボードの入力を処理する。

3. タイマのタスクは半分の第2ハードウェアの割り込みを待ち、次いでウェイクアップメッセージを両者のシーケンスおよびディスプレイタスクに送る。

4. シーケンスのタスクはユーザのプログラムを実行する。

【0250】5. ポーズのタスクは、プログラムが実行されているとき、プログラミングした、キーパッドのポーズを取り扱う。

6. ディスプレイのタスクは実時間で表示を更新する。

7. プリンタのタスクはRS-232のポートのコミュニケーションおよびプリントを取り扱う。

【0251】8. LEDタスクは加熱LEDを推進する。それは、また、導入を実行しているとき、冷却液温度の制御に使用される。

9. リンクのタスクはキーストロークをシミュレーションすることによってある方法と一緒にリンクされるファイルを開始する。

ブロック温度制御プログラム (PID)

比例整数部差分 (PID) タスクは、絶対試料ブロック温度を $0 \sim 1^{\circ}\text{C}$ に制御しながらびに、より多くの加熱電力をブロックの周辺に加えてガードバンドのへりを通る損失を補償することによって、試料ブロック温度の不均一性 (TNU、最も熱いウェルの温度 - 最も冷たいウェルの温度として定義される) を $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に制御する。PIDのタスクは、また、加熱されたカバーの温度をより少ない精度に制御する。このタスクは5回/秒を実行し、そして最高のプライオリティを有する。

【0252】試料ブロックへ供給される加熱電力または冷却電力の量は、記憶装置に記憶されたユーザが特定した試料温度、設定点と呼ぶ、と現在の試料温度の間の差または「誤差」から誘導される。この方式は標準のループ制御の実施を可能とする。現在の誤差に直接比例するフィルムヒータへの電力の寄与、すなわち、比例成分、(設定点の温度 - 試料ブロック温度) に加えて、計算した電力トランスは、また、静止の誤差 (設定点の温度 - ブロック温度 $< 0.5^{\circ}\text{C}$) に近くなる働きをする整数項を組み込む。この成分は整数成分と呼ぶ。整数項を回避するために、整数への蓄積または「ウインドアップ」の寄与は設定点の温度付近の小さいバンドに制限される。比例および整数成分のゲインは、注意して選択されそしてテストされる。なぜなら、ブロックセンサーおよび試料管に関する温度定数は、システムの位相の限界をきびしく制限し、こうしてループの不安定性についての可能性をつくるからである。比例項のゲインは下の方程式 (46) における P であり、そして整数項のゲインは下の方程式 (48) における K_i である。

【0253】PIDタスクは「制御されたオーバーシュートのアルゴリズム」を使用し、ここで試料温度がその所望の温度に出来るだけ急速に到達するように、ブロック温度はしばしばその最後の定常状態にオーバーシュートする。オーバーシュートのアルゴリズムの使用は、制御された方法でブロック温度をオーバーシュートさせるが、試料温度をオーバーシュートさせない。これは電力を節約し、そしてPCR計器において新しいと信じられる。所望のランプ速度を達成するために試料ブロックのすべてのヒータへ供給される合計の電力は、次の式により与えられる：

$$(40) \text{ 電力} = (C_P / r_{mp_rate}) + \text{バイアス} \\ \text{ここで、}$$

C_P = ブロックの熱的質量

50 $\text{バイアス} = \text{バイアスまたは制御冷却電力}$

`rmp_rate = Tfinal + Tinitial / 所望のランプ速度`

この電力は安全性のために加熱電力500ワットの最大にクランプされる。タスクの繰り返し毎に(200毎に)、システムは次のアルゴリズムに基づいて加熱またはランプ冷却電力(必要に応じて)を供給する。

【0254】制御システムは計算された試料温度により推進される。試料温度は、試料ブロックのウェルの1つ(以後「ブロック」)の中に配置された薄い壁のプラスチック試料管中の液体の平均温度として定義される。システム(試料温度およびその内容)の温度定数は型および体積の関数である。ランの開始において、ユーザは管の型および反応体積の量を入力する。システムは生ずる温度定数(τ または τ_{au})を計算する。マイクロアンプ(登録商標)管および $100\mu\text{l}$ の反応体積について、 τ_{au} はほぼ9秒である。

$$(41) T_{blk-new} = T_{blk} + Power * (200\text{ms}/CP)$$

$$(42) T_{temp-new} = T_{temp} + (T_{blk-new} - T_{temp}) * 200\text{ms}/\tau_{au}$$

ここで、

$T_{blk-new}$ = 現在のブロック温度

T_{blk} = 200ミリ秒前のブロック温度

Power = ブロックに供給した電力

CP = ブロックの熱的質量

$T_{temp-new}$ = 現在の試料温度

T_{temp} = 200ミリ秒前の試料温度

τ_{au} = センサーの遅れについて調節した、試料管の熱的時間定数(約1.5)

エラーの信号または温度は、単に、次の通りである：

$$(43) \text{エラー} = \text{設定点} - T_{temp-new}$$

閉じたループのシステムとして、正しい作用(加熱または冷却電力)を現在のエラーの部分を閉じる。下の方程式(45)において、Fは1つの試料期間において閉じるエラー信号のフラクションである。

$$(44) T_{temp-new} = T_{temp} + F * (SP - T_{temp})$$

ここで、SP = ユーザの設定点の温度

システムにおける大きい遅れ(長い管の温度定数)のために、フラクションのFは下にセットされる。式(4

2) および(44)を組み合わせると：次の式が得られる：

$$(45) T_{temp-new} = T_{temp} + (T_{blk-new} - T_{temp}) * 2 / \tau_{au} = T_{temp} + F * (SP - T_{temp})$$

式(41)および(45)を組み合わせ、そして項P(比例項のゲイン)を加えて、ブロック温度の振動を制限し、そしてシステムの安定性を改良すると、次の式が得られる：

$$(46) Pwr = CP * P / T * ((SP - T_{temp}) * F * \tau_{au} / T + T_{temp} - T_{blk})$$

ここで、

P = 比例項のゲイン、

T = 0.2秒の試料期間(200ミリ秒)、そして

P/T = 好ましい実施態様において1。

方程式(46)は、ガードバンドなどを通して周囲への損失なしに、ブロック温度のある所望の温度に動かすために必要な電力(Pwr)を与える、理論的方程式である。

【0255】いったんブロックを推進するために必要な電力が方程式(46)を経て決定されると、この電力は

10 3つのヒータゾーンの面積によりこれらのゾーンの各々に供給される電力に分割される。次いで、マニホールドへの損失は決定され、そしてこれらの損失を補償するために十分な大きさを有する電力項はマニホールドのヒータゾーンへ供給すべき電力量に加えられる。同様に、ブロックの支持ピン、ブロック温度センサーおよび周囲への電力損失を補償するために十分な他の電力項は、へりヒータゾーンへ供給すべき電力に加えられる。これらの追加の項およびゾーンの面積により電力の分割は、方程式(46)を前述の方程式(3), (4)および(5)に変換する。

【0256】方程式(46)は、試料ブロックに対して要求される加熱または冷却電力を決定する好ましい実施態様により使用される式である。計算された試料温度が「整数バンド」、標的温度(SP)付近の±0.5°C、内にあるとき、比例項のゲインは残りのエラーを閉じるために小さ過ぎる。したがって、整数項を比例項に加えて、小さいエラーを閉じる。整数項は整数項の外側で無能化して、大きいエラー信号が蓄積するのを防止する。「整数バンド」の内側のアルゴリズムは、次の通り

30 である：

$$(47) Int_sum(新しい) = Int_sum(古い) + (SP - T_{temp})$$

$$(48) pwr_adj = Ki * Int_sum(新しい)$$

ここで、

Int_sum = SPとTtemp温度との間の試料期間の合計、

Ki = 整数ゲイン(好ましい実施態様において512)。

いったん加熱電力が計算されると、制御ソフトウェアは、図13における3つのヒータゾーン254, 262および256に、好ましい実施態様において面積に基づいて電力を分布させる。へり加熱はブロック温度と周囲温度との間の差に基づいて追加の電力を受ける。同様に、マニホールドのヒータはブロック温度と冷却液温度との間の差に基づいて追加の電力を受ける。

PID擬似コード

システムのパワーアップまたはリセットのとき、ランプ冷却をオフにする

50 すべてのヒータをオフにする

ヒータの抵抗を計算する
 フォエバー命令 (do forever) - 200ミリ秒毎に実行する
 (ブロック温度 > 105) の場合、
 ヒータをオフにする
 ランプ弁をオンにする
 エラーメッセージを表示する
 ライン電圧 {linevoltage} を読む
 冷却液センサーを読みそして温度 {h2otemp} に変換する
 周囲センサーを読みそして温度 {ambtemp} に変換する
 加熱されたカバーのセンサーを読みそして温度 {cvrtemp} に変換する
 試料ブロックのセンサーを読みそして温度 {blktemp} に変換する。コードのこの部分は、また、温度安定性電圧参照を読み、そしてこの電圧を計器の較正の間に決定された参考電圧と比較する。不一致が存在する場合、エレクトロニクスはドリフトしそして温度センサーからの読みを相応して調節して、正確な温度の読みを得る。低パスディジタルフィルターを使用して表示された試料温度 {tubetenth} または獲得温度を計算する。

$$(49) \text{ tubetenth} = \text{TT}_{n-1} + (\text{TB}_n - \text{TT}_{n-1}) * T / \tau_u$$

ここで、

TT_{n-1} = 最後の試料温度 {tubetenth}、
 TB_n = 現在のブロックセンサー温度 {blktemp}

T = 試料間隔 (秒) = 200ミリ秒、

$\tau_u = \tau_u \text{ tube} \{cf_tau\} - \tau_u \text{ センサー} \{cf_tau\}$

方程式 (49) は、上の方程式 (6) としてが与えられた計算した試料温度を定義する指数のタイマー級数を表す。試料ブロックより下のフォームのパッキングの温度、仮想質量として知られている {phantenth}、を計算する。仮想質量の温度を使用して、仮想質量を出入りする熱の流れを説明するブロックへ供給される電力を調節する。この温度はソフトウェアにおいて実施される低パルディジタルフィルターを使用して計算される。

$$(50) \text{ phantenth} = \text{TT}_{n-1} + (\text{TB}_n - \text{TT}_{n-1}) * T / \tau_u$$

ここで、

TT_{n-1} = 最後の仮想質量の温度 {phantenth}、

TB_n = 現在のブロックセンサー温度 {blktemp}

T = 試料間隔 (秒) = 200ミリ秒、

$\tau_{auform} =$ フォームブロックの $\tau_u = 30$ 秒。

【0257】試料温度のエラー (試料温度と設定点温度との間の差) {abs_tubeerr} を計算する。
 ランプ方向 {fast_ramp} = UP_RAMP または DN_RAMP を決定する
 (試料温度が設定点 (SP) の ERR 内にある) 場合、
 PID は速い転移モードではない。{fast_ramp} = OFF
 ここで ERR = 「整数バンド」、すなわち、標的または設定点温度を取り囲む温度の幅。どれだけ多くの熱がバイアス冷却チャンネルへ損失されているかを決定する制御冷却電力 {cool_ctrl} を計算する。

【0258】現在のランプ冷却電力 {cool_ramp} を計算する

{cool_brkpt} を計算する。ここで、{cool_brkpt} は、ランプを制御冷却に下向きのランプでいつ転移させるかを決定するために使用する冷却電力である。それはブロック温度および冷却液温度の関数である。制御冷却電力 {cool_ctrl} およびランプ冷却電力 {cool_ramp} のすべては、CPU が下向きの温度のランプを制御するために、すなわち、ランプ冷却のソレノイド作動弁をどれだけ長く開いて保持するかを計算するために、知らないではならないファクターである。制御冷却電力は、(定数+回路) × ブロックからバイアス冷却チャンネルへの熱的コンダクタンスに等しい。同様に、ランプ冷却電力は、ブロック温度と冷却液温度との間の差 × ブロックからランプ冷却コンダクタンスへの熱的コンダクタンスに等しい。冷却ブレークポイントは、定数 × ブロックと冷却液との間の温度差に等しい。

【0259】ブロック温度をその現在の温度から所望の設定点 (SP) 温度へ動かすために必要な加熱または冷却電力 {int_pwr} を計算する。

$$(51) \text{ int_pwr} = KP * CP * [(SP - TSAMP) * \{cf_kd\} + TS - TBLK]$$

ここで、

KP = 比例ゲイン = 方程式 (46) 中の $P/T =$ 好ましい実施態様においてほぼ 1、

CP = ブロックの熱的質量、

SP = 温度の設定点、

TSAMP = 試料温度、

TBLK = ブロック温度、

$cf_kd = \tau_u * Kd / \delta t_a$ 、ここで τ_u は方程式 (49) において使用したのと同じ τ_u であり、そして Kd は付録 C に記載する定数であり、そして δt_a は 200 ミリ秒の試料期間である。

(試料温度が設定点の {cf_iband} 内にある) 場合、試料エラーを積分する {i_sum}

そのほかに

50 (52) {i_sum=0} をクリアする。

整数項電力を計算する。

$$(53) \text{ 整数項} = \{\text{i_sum}\} * \text{定数} \{c\ f\ _t\ e\ r\ m\}$$

整数項を電力に加える。

$$(54) \{int_pwr\} = \{int_pwr\} + \text{整数項}$$

電力を調節して、仮想質量の作用（フォームのパッキング）のための加熱負荷を、まず仮想質量の電力を見いだし、次いでそれを電力 $\{int_pwr\}$ に加えることによって補償する。仮想質量の電力 $\{phant_pwr\}$ を、次の式により計算する：

$$(55) = C * (\text{blktenhs} - \text{phantenthes}) / 10$$

ここで、

C =フォームのパッキングの熱的質量 (1. 0W/K)。

ヒータ電力を調節する

$\{int_pwr\} = \{int_pwr\} + \{phant_pwr\}$ 試料ブロックからそれを通して流れる冷却液を有するマニホールドのへりの中への損失を補償する、マニホールドのヒータにおいて必要な電力を計算する。システムが下向きのランプである場合、 $\{aux1_power\} = 0$ であることに注意する。マニホールドゾーンの要求される電力を下に記載する：

$$(57) \{aux1_power\} = K1 * (T_{BLK} - T_{AMB}) + K2 * (T_{BLK} - T_{COOL}) + K5 * (dT/dt)$$

ここで、

$K1$ =係数 $\{c\ f\ _1\ c\ o\ e\ f\ f\}$

$K2$ =係数 $\{c\ f\ _2\ c\ o\ e\ f\ f\}$

$K5$ =係数 $\{c\ f\ _5\ c\ o\ e\ f\ f\}$

$d\ T/d\ t$ =ランプ速度

T_{BLK} =ブロック温度、

T_{AMB} =周囲温度、

T_{COOL} =冷却液温度。

【0260】試料ブロックのへりから周囲への損失を補償するであろう、へりヒータにおいて必要な電力 $\{aux2_power\}$ を計算する。下向きランプである場合、 $\{aux2_power\} = 0$ であることに注意する。へりゾーンの要求される電力を下に記載する：

$$(58) \{aux2_power\} = K3 * (T_{BLK} - T_{AMB}) + K4 * (T_{BLK} - T_{COOL}) + K6 * (dT/dt)$$

ここで、

$K3$ =係数 $\{c\ f\ _3\ c\ o\ e\ f\ f\}$

$K4$ =係数 $\{c\ f\ _4\ c\ o\ e\ f\ f\}$

$K6$ =係数 $\{c\ f\ _6\ c\ o\ e\ f\ f\}$

$d\ T/d\ t$ =ランプ速度

T_{BLK} =ブロック温度、

T_{AMB} =周囲温度、

T_{COOL} =冷却液温度。

【0261】マニホールド電力 $\{aux1_power\}$ およびへりヒータ電力 $\{aux2_power\}$ の寄与を消去して、主ヒータおよびクーラにより供給されなくてはならない合計の電力を得る。

$$(59) \{int_pwr\} = \{int_power\} - \{aux1_power\} - \{aux2_power\}$$

ランプ冷却を加えるべきかどうかを決定する。 $\{cool_brkpt\}$ をランプ冷却から制御冷却へのブレークポイントとして使用する。

$(int_pwr < cool_brkpt$ および下向きランプを実施して) 設定点温度より非常に高くてランプ冷却を必要とする場合、ランプ弁をオンにする。そのほかにランプ弁をオフにし、そしてバイアス冷却に依存する

この時点において、 $\{int_pwr\}$ は合計のヒータ電力を含有し、そして $\{aux1_power\}$ および $\{aux2_power\}$ はブロックからへりへの損失を含有する。補助ヒータへ供給される電力は、2つの成分から構成される： aux_power および int_power 。電力は $\{int_pwr\}$ を主ヒータおよび補助ヒータに面積に依存して分配する。

$$\begin{aligned} [0262] total_pwr &= int_pwr \\ int_pwr &= total_pwr * 66\% \\ aux1_power &= total_pwr * 20\% + \\ aux1_power & \\ aux2_power &= total_pwr * 14\% + \\ aux2_power & \end{aligned}$$

30 各端ゾーンおよび適当な量の電力をヒータへ送るための制御ループの繰り返しについて実施すべきトライアックのためのハーフサイクルの数を計算する。このループは $1/5$ 秒毎に1回実行し、したがって、 60Hz において $120/5 = 24$ ハーフサイクルまたは 50Hz において $100/5 = 20$ ハーフサイクルが存在する。ハーフサイクルの数は要求される電力 $\{int_pwr\}$ 、現在のライン電圧 $\{linevolts\}$ およびヒータ抵抗の関数である。正確な必要な電力は各ループに供給されないことがあるので、残部を計算して $\{delta_power\}$ 最後のループから含まれるものとのトラックを保持する。

$$(60) int_pwr = int_pwr + delta_power$$

$1/2$ サイクルの数を計算してトライアックをオンに保持する。 $index$ はトライアックをオンに保持するためのサイクル取り付けられたに等しい。

$$(61) index = \text{電力} * \text{主ヒータohm} * [20 \text{ または } 24] / linevolts^2$$

(61) は各ヒータゾーンについて1回実施し、そして「電力」は主ヒータについて int_pwr であり、マ

ニホールドのヒータゾーンについて aux1_pwr であり、そしてへりのヒータゾーンについて aux2_pwr である。供給された実際の電力の量を計算する。

(62) $\text{actual_power} = \text{linevolts}^2 * \text{index} / \text{主ヒータ抵抗}$

次の時に添加すべき残部を計算する。

(63) $\text{delta_power} = \text{int_pwr} - \text{actual_power}$

{aux1_pwr} および {aux2_pwr} を方程式 (60) の中に代入することによって主ヒータについて記載したのと同一の技術を使用して、へりおよびマニホールドのヒータのための 1/2 サイクルの数を計算する。主、マニホールドおよびへりのトライアックを制御するカウンターの中に計算したカウントを負荷する。加熱されたカバーのセンサーに気を付ける。加熱されたカバーが 100°C より低いとき、加熱されたカバーのカウンターが 50 ワットの電力を供給するように負荷する。試料温度に気を付ける。それが 50°C より高い場合、HOT LED をオンにしてユーザがそれに触れないように警告する。フォエバーループの終わり。

キーボードタスク

キーボードタスクの目的は、ユーザがキーパッドのキーをプレスし、キーを現在の状態について有効なキーストロークのリストと比較し、有効なキーに関連するコマンド機能を実行し、そして新しい状態に変化するために待つことである。無効なキーストロークはビープで指示され、そして無視される。このタスクは状態が推進したユーザのインターフェースの心臓である。それは「状態推進」である。なぜなら、取られる動作はユーザのインターフェースの現在の状態に依存するからである。

キーボードタスクの擬似コード

キーボードタスクの変数を初期化する。

【0263】 カーソルをオフにする。（導入フラグがセットされない）場合、導入プログラムを実行する。メッセージをピッド（pid）タスクに送って加熱されたカバーをオンにする。（ユーザがプログラムを実行している間に電力が故障した）場合、電力がオフになる分数を計算しそして表示する。

【0264】 電力故障状態のレコードを履歴ファイルに書き込む。あるメッセージをシーケンスタスクに送って 4°C のソーキングを開始する。履歴ファイルを概観するオプションをユーザに与える。（ユーザが履歴ファイルを概観することを要求する）場合、履歴ファイルのディスプレイに行く。

【0265】 トップレベルのスクリーンを表示する。

フォエバーの命令

このタスクがキーパッドからのハードウェアの割り込みを待つシステムにメッセージを送る。

【0266】 この割り込みがレシーブされるまで、スリープ（sleep）に行く。起きたとき、キーをキーパ

ッドから取りそしてデコードする。現在の状態のために有効なキーのリストを得る。キーを有効なキーと比較する。（キーがこの状態に有効である）場合、「動作」およびこのキーのための次の状態の情報を獲得する。

【0267】 この状態のための「動作」（コマンド機能）を実行する。次の状態に行く。そのほかに無効のキーのためのビーパーをビープする。フォエバーループの終わり。

タイマタスクのオーバービュー

10 タイマタスクの目的は、1/2 秒毎にシーケンスおよび実時間表示タスクをウェイクアップすることである。クロック／カレンダー装置により発生された半分のハードウェアの割り込みを受けとる毎に、タイマタスクはシステム（CRETIN）に要求してそれをウェイクする。次いで、タイマタスクは引き続いて 2 ウェイクアップメッセージを、それぞれ、シーケンスタスクにおいて実時間ディスプレイに送る。この中間のタスクは必要である。なぜなら、CRETIN は割り込み当たり 1 タスクのみをサービスし、こうしてより高いプライオリティタスク（シーケンスタスク）のみを実行するからである。

タイマタスクの擬似コード

フェエバーの命令

クロック／カレンダー装置からハードウェアの割り込みのために待つメッセージをシステムに送る。

【0268】 この割り込みをレシーブするまでスリープする。アウェイク（awake）したとき、メッセージをシーケンスおよび実時間ディスプレイタスクに送る。フォエバーループを終わる。

シーケンスタスクのオーバービュー

30 シーケンスタスクの目的は、ユーザが定めたプログラムの内容を実行する。それはランプおよび保持セグメントから成る、サイクル中の各設定点を通して順次にステップし、そして設定点の温度のメッセージをピッドタスクに送り、ピッドタスクは引き続いて試料ブロックの温度を制御する。各セグメントの終わりにおいて、それは実時間ディスプレイタスクにディスプレイをスイッチするメッセージおよびセグメントのルーチンの情報をプリントするメッセージをプリントタスクを送る。ユーザはキーパッド上の PAUSE キーを押して実行しているプログラムをポーズし、次いで START キーを押してプログラムを再開する。ユーザは STOP キーを押してプログラムを早期にアボートすることができる。このタスクは、タイマタスクによりアウェイクされるとき、1/2 秒毎に実行する。

シーケンスタスクの擬似コード

フェエバーの命令

シーケンスタスクの変数を初期化する。

【0269】 ユーザが START キーを押すか、あるいはメニューから選択したキーボードからのメッセージ、あるいはある方法における次のプログラムが実行のため

に準備されたリンクタスクからのメッセージを待つ。このメッセージがレシーブされるまでスリープする。アウェイクしたとき、アナログ回路におけるドリフトを説明するADC較正の読みを更新する。

【0270】(4°Cの電力故障のソークシケンスを開始しない)場合、PEタイトルライシ、システム時間および日付、プログラム構成パラメータ、プログラムの型およびその数をプリントするメッセージをプリンタへ送る。(HOLDプログラムを開始する)場合、{hold_tp}に保持する温度を得る。

【0271】{hold_time}の間保持する秒数を得る。(3°Cより大きくランピングダウンそして{hold_tp} > 45°C)である場合、中間の設定点を配置する。最後の設定点{hold_time}を配置する。(保持時間{hold_time}をカウントダウンする)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。

【0272】ブロックセンサーを開いていることまたはショートについてチェックする。(キーボードタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料温度の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。

【0273】(中間の設定点が配置された)場合、最終の設定点を配置する。(設定点温度が周囲温度より下でありそして4分より長い間存在する)場合、加熱されたカバーをオフにすることをピッドタスクに伝えるフラグをセットする。1/2秒の保持時間のカウンター{store_time}を増加する。

【0274】中間の設定点に到達する前に保持時間が経過した場合、最後の設定点を再び配置する—これは正しい設定点が履歴ファイルに書き込まれることを保証する。データレコードを履歴ファイルに書き込む。HOLD情報をプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。HOLDプログラムの終わりそのほかに(CYCLEプログラムを開始する)場合、計器のランプ時間およびユーザがプログラミングしたランプおよび保持時間を考慮して、サイクルにおいて合計の秒数{sec_in_run}を加える。

【0275】サイクルにおける秒数をプログラム中のサイクル数{num_cyc}を掛けることによって、プログラム中の合計の秒数を得る。合計の{sec_in_run} = {sec_in_run} / サイクル * {num_cyc}。(サイクル{num_cyc}の数をカウントダウンする)間、設定点の数{num_seg}をカウントダウンする)間、ランプ時間{ramp_time}を得る。

【0276】最終の設定点温度{t_final}を得る。保持時間{local_time}を得る。ランプセグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディス

プレイタスクに送る。(ユーザがランプ時間をプログラミングした)場合、プログラミングしたランプ時間と実際のランプ時間との間のエラー{ramp_err}を次のようにして計算する。この方程式は実験データに基づく。

{ramp_err} = prog_ramp_rate * 15 + 0.5 (アップランプ)

{ramp_err} = prog_ramp_rate * 6 + 1.0 (ダウンランプ)

10 ここで、

prog_ramp_rate = (abs(Tf - Tc) - 1) / {ramp_time}

Tf = 設定点温度{t_final}、

Tc = 現在のブロック温度{blktemp}、

abs = 式の絶対値。

注: 「-1」は設定点の1°C以内でクロックが開始するので存在する。

新しいramp_time = 古い{ramp_time} - {ramp_err}

20 (新しいramp_time > 古い{ramp_time}) である場合、新しいramp_time = 古い{ramp_time}

そのほかに

新しいramp_time = 0。

(試料時間がユーザの構成した設定点のtime{cf_dev}内にない)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップを待つ。

【0277】新しいランプ設定点を毎秒配置する。そのほかに(3°Cより大きいランピングダウンおよび{t_final} > 45°C)の場合、中間の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点のtime{cf_clk_dev}内にない)間、1/2秒のウェイクアップを待つ。

【0278】1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。ブロックセンサーをオープンまたはショートをチェックする。(キーボードのタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料時間の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。

【0279】ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。最終の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点のtime{cf_clk_dev}内にない)間、1/2秒のウェイクアップを待つ。

【0280】1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。ブロックセンサーをオープンまたはショートをチェックする。(キーボードのタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料時間の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。

【0281】ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。ラン

プの情報をプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。ランプセグメントの信号の終わりに対してビーパーをビープする。ランプセグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。

【0282】(保持時間をカウントダウンする)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。ロックセンサーをオープンまたはショートをチェックする。(キーボードのタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料時間の設定点を配置する。

【0283】ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。データのレコードを履歴ファイルに書き込む。保持の情報をプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。

【0284】(最終の設定点温度がユーザの構成可能な{cf_temp_dev}より大きい)場合、エラーのレコードを履歴ファイルに書き込む。プログラム可能なポーズをチェックする。次のセグメントに行く。サイクルのメッセージの終わりをプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。

【0285】次のサイクルに行く。CYCLEのプログラムの終わり。そのほかに(AUTO-CYCLEプログラムを開始する)場合、増分のランプ時間とプログラム可能な量の各サイクルにより自動的に増加または減少することができるユーザがプログラミングした保持時間とを考慮して、各プログラム{secs_in_run}の中に合計の数を加える。

【0286】(サイクルの数{num_cyc}をカウントダウンする)間、最終の設定点温度{tfinal}を得る。保持時間{time_hold}を得る。ユーザが設定点温度および/または保持時間の自動的増加または減少をプログラミングしたかどうかをチェックし、そしてそれに応じてそれらを調節する。

【0287】温度の自動的増加または減少が設定点を0°C以下または99.9°C以上にする場合、エラーのレコードを履歴ファイルに書き込む。設定点は0°Cまたは99.9°Cでキャップ(cap)される。ランプセグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。

【0288】(3°Cより大きいランピングダウンおよび{tfinal} > 45°C)の場合、中間の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点のtemp{cf_ck_dev}内にない)間、1/2秒のウェイクアップを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。

【0289】ロックセンサーをオープンまたはショートをチェックする。(キーボードのタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料時間の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを

送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。

【0290】ポーズ前の設定点を配置する。最終の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点のtemp{cf_ck_dev}内にない)間、1/2秒のウェイクアップを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。

【0291】ロックセンサーをオープンまたはショートをチェックする。(キーボードのタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料時間の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。

【0292】ポーズ前の設定点を配置する。ランプの情報をプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。ランプセグメントの信号の終わりに対してビーパーをビープする。ランプセグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。

【0293】(保持時間をカウントダウンする)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。ロックセンサーをオープンまたはショートをチェックする。(キーボードのタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料時間の設定点を配置する。

【0294】ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。データのレコードを履歴ファイルに書き込む。保持の情報をプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。

【0295】(最終の設定点温度がユーザの構成可能な{cf_temp_dev}より大きい)場合、エラーのレコードを履歴ファイルに書き込む。プログラム可能なポーズをチェックする。次のセグメントに行く。サイクルのメッセージの終わりをプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。

【0296】次のサイクルに行く。AUTO-CYCLEのプログラムの終わり。そのほかに(POWER FAILTUREを開始する)場合、4°Cの設定点を配置する。

【0297】ピッドタスクが加熱されたカバーをシャットオフするように、フラッグ{subamb_hold}をセットする。フォエバーを命令する。タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒の保持時間を増加する。フォエバーループを終わる。電力故障の終わり。履歴ファイルに実行終わりの状態のレコードを書き込む。

【0298】(方法を実行している)場合、リンクタスクが次のプログラムの実行を開始するメッセージをシケンタスクを送ることを知るように、フラッグ{wired_flag}をセットするそのほかにユーザの

インターフェースをアイドル状態の表示に戻す。フォエバーループの終わり。

ポーズタスクのオーバービュー

ポーズタスクの目的は、ユーザがCYCLEプログラムの中にプログラミングするポーズあるいはユーザがキーパッド上のPAUSEキーを押すときのポーズを取り扱うことである。

【0299】CYCLEプログラムを実行する間シーケンスがプログラミングしたタスクに直面するとき、ポーズタスクは、引き続いて、ユーザがポーズするように要求した時間の減少を連続的に表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。ポーズの時間を計るとき、ポーズタスクはシーケンスタスクをアウェイクし、次いでスリープするメッセージを送る。ユーザはキーパッド上のSTARTキーを押すことによってプログラムを早期に再開することができるが、あるいはSTOPキーを押すことによってプログラムをアボートすることができる。

【0300】プログラムが実行されている間キーボードタスクがPAUSEキーを検出したとき、それはフラグ{pause_flag}をセットし、次いでシーケンスタスクがそれを肯定するのを待つ。シーケンスタスクはこのフラグのセットを見るとき、それは肯定応答メッセージをキーボードタスクに送り、次いでそれ自体スリープする。キーボードタスクがこのメッセージを受けとるとき、それはポーズタスクをアウェイクする。ポーズタスクは連続的にディスプレイしあつプログラムがポーズする時間の量を増加するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。タイマは、構成のセクションにおいてユーザがセットしたポーズ時間の限界に到達するときをタイムアウトする。ユーザは、キーパッド上のSTARTキーを押すことによってプログラムを再開するか、あるいはスパイクを押すことによってプログラムをアボートすることができる。

ポーズタスクの擬似コード

フォエバーを命令する

キーパッドのポーズを示すキーボードタスクからのメッセージ、あるいはユーザのプログラミングしたポーズを示すシーケンスからのメッセージを待つ。

【0301】メッセージが受けとられるまでスリープする。アウェイクしたとき、示したポーズの型についてのフラグをチェックする。（それがプログラミングしたポーズである）場合、タイマがカウントアップするポーズを表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。そのほかにタイマがカウントダウンするポーズを表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。（タイムアウトカウンターをカウントダウンする）間、このタスクを1/2秒間持続するメッセージをシステムに送る。ポーズの情報をプリントタスクに送る。

（それはプログラミングしたポーズである）場合、ポー

ズはタイムアウトされているので、シーケンスタスクをウェイクアップするメッセージを送る。

【0302】ポーズの表示を中止するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。実行するプログラムの表示を再開するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。そのほかに（それがキーパッドのポーズである）場合、ポーズはタイムアウトされており、そしてプログラムはアボートされなくてはならないので、シーケンスタスクを中止するメッセージをシステムに送りそしてそれをそのFOEVERループのトップに送り戻さなくてはならない。

【0303】（プログラムの実行がHOLDプログラムであった）場合、保持情報をプリントするメッセージをプリントタスクに送る。状態のレコードを履歴ファイルに書き込む。ユーザのインターフェースをそのアイドル状態に戻す。アボートのメッセージを表示する。フォエバーのループの終わり。

ディスプレイタスクのオーバービュー

実時間ディスプレイタスクの目的は、温度、タイマ、センサーの読み、ADCチャンネルの読み、および1/2秒毎に更新することが必要である他のパラメーターを表示することである。

ディスプレイタスクの擬似コード：ディスプレイタスクの変数を初期化する。

フォエバーを命令する

1/2秒毎にタイマタクスからのメッセージを待つ。

【0304】メッセージが受けとられるまでスリープする。アウェイクしたとき、他のタスクがディスプレイのパラメーターのリストまたは現在の更新を中止するフラグを送ったかどうかをチェックする。1/2秒のフラグ{half_sec}をトグルする。（ディスプレイのパラメーターのリストが存在する）場合、誰もがディスプレイを更新しないように信号をセットする。

【0305】カーソルをオフにする。（パラメーターのリストを通してステップする）間、（それが時間のパラメーターである）場合、時間をディスプレイする。（1/2秒のフラグ{half_sec}がセットされる）場合、時間変数を増加または減少する。

【0306】そのほかに（それが小数である）場合、小数を表示する。（それが整数である）場合、整数を表示する。そのほかに（それがADCチャンネルのリードアウトである）場合、ADCチャンネルからのカウントを読む。

【0307】（それをmVとし表示することが必要である）場合、カウントをmVに変換する。その値を表示する。そのほかに（それが電力のディスプレイである）場合、電力をワットで表示する。

【0308】そのほかに（それが残った時間のパラメーターである）場合、秒を時間の1/10に変換する。残った時間を1/10時間で表示する。（1/2秒のフラ

タグ {half_sec} をセットする) 場合、秒の変数を減少する。

【0309】(カーソルがオンであった) 場合、それをオンにし戻す。現在のシステム時間をバッテリーRAMに記憶する。信号をクリアしてディスプレイを解放する。フォエバーのループの終わり。

プリンタタスクのオーバービュー

プリンタの目的は、実行時間を取り扱うことである。それは低いプライオリティのタスクであり、そして他の時間のクリティカルタスクを干渉しない。

プリンタタスクの擬似コード

フォエバーの命令

プリントを望むメッセージを他のタスクから待つ。

【0310】メッセージを受けとるまでスリープする。アウェイクしたとき、広域変数の局所的比例定数をプリントする。プリンタの肯定メッセージを配置する。(状態またはエラーのメッセージをプリントすることが必要である) 場合、現在の履歴レコードの中に含まれている情報をプリントする。

【0311】そのほかに(ページヘッダをプリントすることが必要である) 場合、プログラムの型およびその数をプリントする。そのほかに(プログラムの構成パラメーターをプリントすることが必要である) 場合、クロックを開始する設定点からの管の型、反応値および試料温度の誘導をプリントする。

【0312】そのほかに(サイクルの情報の終わりをプリントすることが必要である) 場合、終わりの時間および温度をプリントする。そのほかに(セグメントの情報をプリントが必要である) 場合、ランプおよび保持セグメントの場合をプリントする。

【0313】そのほかに(ポーズの状態のメッセージをプリントが必要である) 場合、ポーズした時間および温度をプリントする。フォエバーのループの終わり。

LEDタスクのオーバービュー

LEDタスクの目的は、「加熱」LEDの照明が主ヒータに加えた電力を反映するようにさせることである。これは毎秒1回実行する低いプライオリティが存在する。

LEDタスクの擬似コード: LEDタスクの変数を初期化する。

フォエバーの命令

このタスクを毎秒をウェイクするメッセージをシステムに送る。

【0314】スリープする。アウェイクしたとき、次のようにして主ヒータに加えた電力を反映する値をPICタイマAのカウンター2に負荷する:

カウンターに値 = {K_ht1ed} * {ht1ed} を負荷する

ここで、{K_ht1ed} は加熱LEDをパルスする時間を計算するための定数であり、そして 15200 /

500 に等しい。15200 は 14.4 kHz の PIC のクロックよりわずかに大きく、そしてこれは LED を絶えずオンに保持するためにタイマに負荷する値である。500 は主ヒータの電力である。

【0315】{ht1ed} は 0 ~ 500 の値であり、そして主ヒータに加えたワットに等しくなる。

フォエバーのループの終わり

リンクタスクのオーバービュー

リンクタスクの目的は、キュパッド上の START キーを押すユーザをシミュレーションすることである。ユーザの介在なしに 1 つずつ(方法におけるように) プログラムを実行できるように、このタスクは必要である。リンクタスクはシーケンスタスクをウェイクアップし、そして START キーが押されたように、それは次のプログラムを実行を開始する。

リンクタスクの擬似コード: リンクタスクの変数を初期化する。

フォエバーの命令

(フラグ {weird_flag} はセットであり、そしてそれがその方法における第 1 ファイルではない) 場合、ウェイクアップのメッセージをシーケンスタスクに送る。フォエバーのループの終わり。

スタートアップシーケンス

パワーアップシーケンス

計器への電力がオンにされるか、あるいはソフトウェアが RESET を命令するとき、次のシーケンスが起こる。注: 以下の数はフローチャート上の数である(図 5-4 ~ 図 5-7 参照)。

【0316】1. RS-232 プリンタポートの中から外に Ctr1-G (10 進法の 7) の文字を転送する。RS-232 ポートを少なくとも 1 秒間ポーリングそして Ctr1-G がレシーブされる場合、外部のコンピュータをポートに取り付け、そしてパワーアップシーケンスの間のすべてのコミュニケーションをキーパッドから RS-232 ポートに再び向けると仮定する。Ctr1-G がレシーブされない場合、パワーアップシーケンスは正常として連続する。

【0317】2. MORE キーが押されたかどうかをチェックする。押された場合、サービスオンリーのハードウェアの診断に行く。

3. 次の 3 テストはオーディオ/ビジュアルチェックであり、そしてエラーをレポートすることができない:
1) ピーパーはビープする、2) キーボード上の熱い、冷却、および加熱 LED はフラッシュする、3) ディスプレイの各絵素は輝く。著者権および計器の ID スクリーンは、パワーアップ診断の実行として表示される。

【0318】4. パワーアップ診断の 1 つにおいてエラーが起こると、破壊した成分の名前は表示され、そしてサービスオンリーのハードウェアの診断へのアクセスを獲得するコード「MORE 999」を除外して、キーパ

ッドはロックされる。

5. PPI-Bのチャンネル0をチェックして、自動化テストビットを低く引かれるかどうかを見る。そうである場合、UARTテストを実行する。テストがパスする場合、ビープを連続的にビープする。

【0319】6. CRETINオペレーションシステムをスタートし、このシステムは引き続いてプライオリティレベルにより各タスクをスタートする。

7. バッテリーRAM中のフラッグをチェックして、計器が較正されたかどうかを見る。そうでない場合、エラーメッセージを表示し、そしてサービスオンリーの較正テストへのアクセスを獲得するコード「MORE 999」を除外して、キーパッドをロックする。

【0320】8. 電圧およびラインの周波数を測定するテストを実行し、そして計器を較正している間選択した構成プラグと両者のこれらの値が合致するかどうかを見る。合致しない場合、エラーメッセージを表示し、そしてサービスオンリーの構成テストへのアクセスを獲得するコード「MORE 999」を除外して、キーパッドをロックする。

【0321】9. 導入セクションにおいて記載したようにヒータピングテストを実施する。ヒータは誤って配線されている場合、エラーメッセージを表示し、そしてサービスオンリーの較正テストへのアクセスを獲得するコード「MORE 999」を除外して、キーパッドをロックする。

10. バッテリーRAM中のフラッグをチェックして、計器が導入されたかどうかを見る。そうでない場合、エラーメッセージを表示し、そして導入ルーチンへのアクセスを獲得するコード「MORE 999」を除外して、キーパッドをロックする。

【0322】11. 遠隔モードでない場合、バッテリーRAM中のフラッグをチェックして、計器が実行されている間に電力の故障が存在したかどうかを見る。そうである場合、4°Cのソークを開始しそして電力がオフになっていた時間の量を表示する。電力が消耗したとき、どれだけ長く実行されたかを正確に告げる履歴ファイルを見たいかどうかをユーザに要求する。ユーザがyesを選択する場合、ユーザの診断に直接行く。

【0323】12. ピーパーをビープし、そして遠隔モードフラッグをクリアし、こうしてすべてのコミュニケーションはここでキーパッドを通して戻される。

13. バッテリーRAMをチェックして、自動的に開始されたテストプログラムを作成が欲するかどうかを見る。そうである場合、プログラムの実行を開始し、そしてそれが実施されたのち計器をリセットする。

【0324】14. トップレベルのユーザのインターフェースのスクリーンをディスプレイする。

図51を参照すると、商標MAXIAMPで市販されている大きい体積の薄い壁の反応管の断面図である。この

管PCR反応に有用であり、ここで合計の体積を200μlより大きくする反応混合物に、試薬または他の物質を添加することが必要である。図51に示されているより大きい管は、Himont PDポリプロピレンまたはValtec HH-444ポリプロピレンから作られており、そして試料ブロックと接触する薄い壁を有する。選択した材料は何であっても、DNAおよびPCR反応混合物の他の成分と適合性であって、例えば、標的DNAを壁に粘着させることによって処理するPCR反応を障害せずそして複製しないようにする。ガラスは一般にすぐれた選択物ではない。なぜなら、DNAはガラス管の壁に粘着することが知られているからである。図51中の寸法Aは典型的には0.012±0.001インチ(0.30±0.03mm)であり、そして管の縦軸に関する壁の角度は典型的には17°である。17°壁の角度の利点は、下向きの力が試料ブロックとすぐれた熱的接触し、管は試料ウェル中で閉塞しないということである。薄い壁の利点は、それが試料ブロックの温度変化と反応混合物の温度の対応する変化との間の遅延を最小にすることである。これが意味するように、ユーザが変性セグメントにおいて反応混合物を94°Cの1°C内に5秒間止まらせ、そしてこれらのパラメーターでプログラミングしようとする場合ユーザは5秒の変性間隔を得得し、ここで時間遅れはより厚い壁をもつ普通の管を使用する場合より少ない。短いソーク間隔、例えば、5秒のソーク間隔をプログラミングし、そして正確にプログラミングした時間の間プログラミングした温度におけるソークを獲得することができるという、この実施の特性は、計算した試料温度を使用してタイマを制御することによって可能である。ここに記載するシステムにおいて、計算した試料温度がプログラミングしたソーク温度に到達するまで、インキュベーションまたはソークの間隔を時間決定するタイマはスタートしない。

【0325】さらに、薄い壁の試料管を使用するとき、試料混合物が標的温度の1°C内にするのに、この試料管は先行技術のマイクロ遠心器と比較して、約1/2~2/3の時間を要するのみであり、そしてこれは図51に示す背の高いMAXIAMP登録商標管および図15に示すそれより小さい薄い壁のMICROAMP登録商標管の両者では真実である。

【0326】MAXIAMP管およびMICROAMPの壁厚さは、適切な構造の強さと一致するできるだけ薄いように製作プロセスにおいて精密に制御される。典型的な、ポリプロピレンについて、これはどこでも0.09~0.012インチ(0.23~0.30mm)である。新しい場合、ポリプロピレンより強いよりエキゾチックな材料を使用してPCR反応速度を大きくするという利点を達成し、適切な強さが維持されてすぐれた熱的接続を保証する下向きの力および通常の使用の他のストレスに耐える限り、壁厚さはなお薄くあることができ

103

る。1. 12インチ(28.4mm)の高さ(図51において寸法B)および0.780インチ(19.8mm)の寸法Cおよび0.395インチ(10.0mm)の上の区画の壁厚さ(Dの寸法)では、MAX I AMP管の時間定数はほぼ14秒であるが、これは充填時間のように正確に測定されなかった。図15に示すより短い管のためのMICROAMP管の時間定数は、典型的には、0.009インチ±0.001インチ(0.23±0.03mm)の円錐形区画における管壁厚さで、ほぼ9.5秒である。

【0327】図52はより薄い壁のMICROAMP管の使用の結果を示す。標的温度の同様な速度増加の達成は薄い壁のMAX I AMP管の使用から生ずるであろう。図52を参照すると、MICROAMP管中の計算した試料温度についての相対的インキュベーション温度対72°Cの出発温度から94°Cの標的変性温度の1°C内の温度に到達するための先行技術管についての時間のグラフが示されている。図52において、100μlの試料が各管の中に存在した。開いた箱によりマークされたデータ点をもつ曲線は、9.5秒の応答時間および0.009インチ(0.23mm)の壁厚さをもつMICROAMP管についての計算した試料温度応答である。Xによりマークされたデータ点をもつ曲線は、先行技術の0.030インチ(0.76mm)の壁厚さをもつ厚い壁のマイクロ遠心器管中の100μlの試料について計算した試料温度を表す。このグラフが示すように、薄い壁のMICROAMP管はほぼ36秒以内で94°Cの標的ソーグ温度の1°C内の計算した温度に到達するが、先行技術管は約73秒を要する。これは重要である。なぜなら、ソーグ温度に実質的に到達するまで、タイマをスタートさせない計器において、先行技術の管は、ことに各PCRサイクルが少なくとも2つのランプおよびソーグを有し、そして一般に実施する非常に多数のサイクルが存在するという事実に照らして考慮したとき、全体のプロセシング時間を実質的に増加することがあるからである。実際の試料温度に無関係にブロック/浴/炉温度に基づいてそれらの時間をスタートするシステムにおいて、ブロック/浴/炉温度の変化と試料混合物の温度変化との間のこれらの長い遅延は重大なマイナスの結果を有することがある。問題は、長い遅延を反応混合物がソーグのためにプログラミングした温度に実際にある時間にカットできることである。最近のPCRプロセスにおいて普通であるように非常に短いソーグについて、加熱/冷却システムをスタートして反応混合物の温度を変化させようとする前に、反応混合物はプログラミングしたソーグ温度に決して到達することができない。

【0328】図51は、プラスチックウェブ625によりMAC I AMP試料管に接続されたポリプロピレンのキャップを示す。キャップの外径Eおよび管の上の区画の内径は0.002インチ(0.05mm)および0.0

104

05インチ(0.13mm)の間の縫り嵌めのための大きさである。管の内側表面654は、ぱり、切り目および引っ掛け傷が存在せず、こうしてキャップとの緊密なシールを形成できるようにすべきである。

【0329】図53は、管651、キャップ650およびウェブ652の平面図を示す。肩656はキャップが管の中に深く押し込まれるのを防止し、そして加熱された定盤と接触させるための試料管の上部へりより上のキャップ十分な突起を可能とする。これは、また、十分な管の変形を可能とし、こうして図15における最小の許容されうる力Fはキャップの変形により加えることができる。

【0330】好ましい実施態様において、管およびキャップは、15分までの間126°Cまでの温度でオートクレーブ処理可能であるHimont PD701ポリプロピレンから作られる。これにより、この使い捨て管を使用前に滅菌することができる。キャップは加熱された定盤をもつ機械の中の使用のとき永久的に変形するので、管はただ1回の使用のために設計される。

【0331】MICROAMP管のためのキャップは8または12キャップの接続へリstrippで入手可能であり、各キャップは番号を付されているか、あるいは個々のキャップに分割されている。キャップの単一の列を使用することができて列は必要に応じた小さい数に容易に短くすることができますか、あるいは個々のキャップをストリップから切り取ることができます。MAX I AMP管のためのキャップは図5に示されているように取り付けられるか、あるいは分離された個々のキャップである。

【0332】MICROAMP管上の混合を可能とするポスターPCR試薬の添加のための最小体積は、MAX I AMP管について500μlまでである。温度の限界は-70°C~126°Cである。応答時間は試料の値に依存する。ブロックが急激に温度を変化させたとき、応答は新しい温度の37%以内に試料がなる時間として測定される。典型的な応答時間は、50μlの充填について7.0秒であり、そして20μlの充填について5.0秒である。

付録A

ユーザのインターフェース

ユーザのインターフェースのGene AmpのPCRシステム9600の目的は、PCRを実施するプログラムを開発しそして実行することである。

【0333】入手可能な3つの型のプログラムが存在する。HOLDプログラムは、セットした量の時間について保持されるか、あるいは無限量の時間について保持されそしてSTOPキーにより停止される单一の設定点から成る。CYCLEプログラムは時間決定したランプおよびプログラム可能なポーズの特徴を添加する。これはプログラムは9までの設定点および99までのサイクル

105

を可能とする。AYTOプログラムにより、ユーザは設定点の時間および／または温度をサイクル毎に固定した量で増加または減少することができる。このプログラムは、また、9までの設定点および99までのサイクルを可能とする。METHODプログラムは、17の保持、サイクルまたはオートプログラムと一緒にリンクする方法を提供する。

*

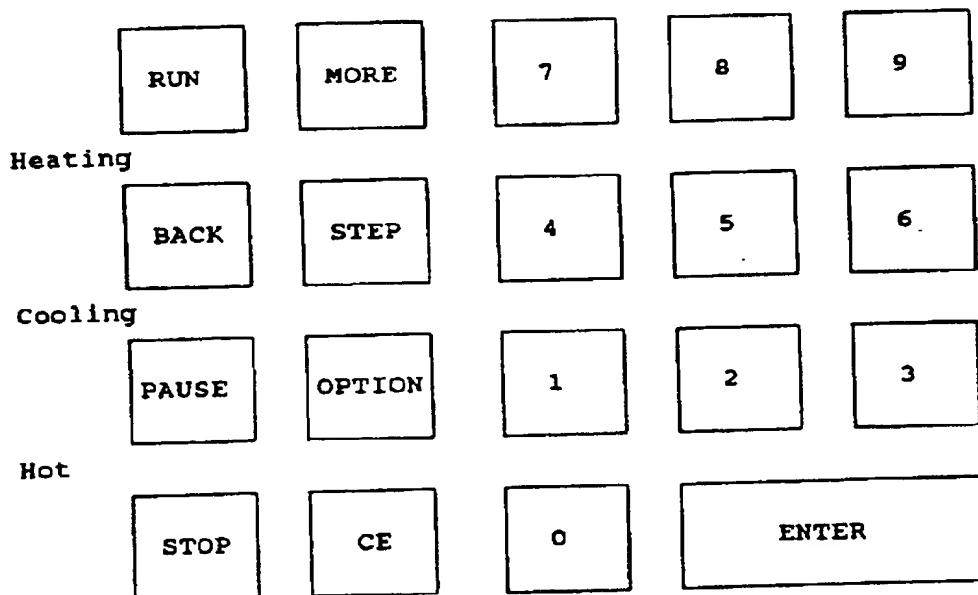
106

*【0334】合計150のプログラムを1~150の範囲の数で記憶することができる。プログラムをつくり、記憶し、保護し、プリントし、または消去することができる。記憶されたプログラムのディレクトリを見るか、あるいはプリントすることができる。

【0335】

【表1】

システム9600のキーボード



RUN：プログラムのディスプレイからプログラムの実行をスタートか、あるいはプログラミングしたまたはキーパッドのpushを再スタートする。

MORE：ランタイムのディスプレイをトグルしそして、また、サービスオンリーファンクションをアクセスする（コード999による場合）。

【0336】BACK：同一のスクリーン内の前のフィールドに動かす。現在第1フィールドに位置している場合、それは前のスクリーンに動く。

STEP：次のスクリーン中の第1フィールドに下に動く。

PAUSE：マニュアル割り込みのためにポーズしたタイムアウトをスタートする。

【0337】OPTION：メニューの項目を通してカーソルを左右に動かし（一番左のオプションヘローリン

グオーバーする）か、あるいはYES/NOの応答をトグルする。

30 STOP：実行しているプログラムをアボートするか、あるいはユーザのインターフェースにおいて1レベル上に動かす。

【0338】CE：無効の入力をクリアする。

ENTER：現在の数の入力を受け取り、メニューの項目を受け取り、YES/NOの応答を受け取るか、あるいはディスプレイの次のフィールドにスキップする。数の入力がディスプレイの最後である場合、ENTERは次のディスプレイにステップする。

【0339】普通のシステム9600のディスプレイ

40 【0340】

【表2】

PROGRAM display

Prog #	Msg	Temp
Menu		

Example:

CYCL #17 Done	74.0C
RUN-STORE-PRINT-HOME	

Prog HOLD, CYCL, AUTOまたはMETHODである
プログラム# (1~150) またはそれがまだ記憶されない場合?
??

107

Msg Done, Error, Abortまたはブランク
 Temp 現在の試料温度
 Menu 入手可能なオプション

[0341]

【表3】

<u>RUNTIME display</u>		<u>Example:</u>
Action Timer	Temp Prog/Cyc	Ramp to 94.0C 29.6C 10:00 Cycle 14

Action 「x x. x°Cにおいて保持」または「x x. x°Cにランプ」
 Temp 現在の試料温度
 Timer 保持またはランプ時間をカウントダウンするか、あるいはFOR EVERの保持時間までカウントアップする
 Prog/Cyc HOLDファイルについて「Prog xxx」である
 CYCLまたはAUTOファイルは「Cycle xx」である—カウントアップ

[0342]

【表4】

<u>MORE display</u>		<u>Example:</u>
Setpt Timer	Tot Cyc Prog	Setpt #3 Tot Cyc 25 Hrs left 2.5 Prog 17

Setpt 現在の設定点# (1~9) —カウントアップ
 Tot Cyc 現在のプログラムにおけるサイクルの合計の# (1~99)
 Timer プログラムにおける残りの時間 (時間) —カウントダウン
 Prog 現在のプログラム# (1~150)

[0343]

【表5】

<u>KEYPAD PAUSE display</u>		<u>Example:</u>
Prog #### PAUSE Timer	Temp	AUTO #18 55.0C PAUSE 9:45

Prog HOLD, CYCL, AUTOまたはMETHである
 ##### プログラム# (1~150) またはそれがまだ記憶されない場合?
 ??
 Msg Done, Error, Abortまたはブランク
 Temp 現在の試料温度
 Timer 構成可能なポーズ時間—カウントダウン

トップレベルのユーザのインターフェース

【表6】

[0344]

109

110

Select Option 9600
RUN-CREATE-EDIT-UTIL
 TOP LEVEL display

Run
Enter program #xxx
 RUN display

Edit
Enter program #xxx
 EDIT display

Create program
HOLD-CYCL-AUTO-METH
 CREATE display

Select function
DIR-CONFIG-DIAG-DEL
 UTIL display

プログラムはCREATEのディスプレイ中のプログラムの型を選択することによってつくる。ユーザは編集すべきプログラムの最初のディスプレイに直接行く。記憶されたプログラムを、RUN, EDITまたはプログラムディスプレイから数1～150を入力することによって検索する。RUNディスプレイから有効なプログラムの数の入力はランを自動的に開始する。EDITまたはプログラムのディスプレイから有効な数を入力すると、編集すべきプログラムの最初にディスプレイされる。

【0345】STOP (スクリーンを下に動かす) またはBACK (前のフィールドに動く) またはENTER (次のフィールドに動く) を押すことによって、プログラムを編集する。RUN-STORE-PRINT-HOMEメニューのRUNを選択するか、あるいはキーパッド上のRUNキーを押すことによって、プログラムを実行する。

【0346】

【表7】

Tube type: MICRO
 React vol: 100uL

OPTIONキーはMICRO (Micro Amp管) からTHIN (薄い壁のGene Amp管) に管の型をトグルする。ユーザが特別の管を構成した場合、OTHERのオプションを添加する。異なる反応体積を入力することができる。これらのパラメータはこのプログラムとともに記憶される。ENTERはこれらの値を受け取る。

【0347】

【表8】

Select print mode
OFF-CYCLE-SETPOINT

場合、次のプリンタの選択を与えられる。CYCLEはサイクルが完結したときのみメッセージをプリントする。SETPOINTはすべての設定点（ランプ/保持時間および温度）についてのランタイムのデータをプリントする。

【0348】

【表9】

Select print mode
OFF-ON

ユーザがランタイムプリンタのオンを構成し、そして保持のプログラムを実行している場合、次のプリンタの選択を与えられる。

【0349】

【表10】

Cover temp is xx°C
 Run starts at 100°C

加熱されたカバーが100°C以下である場合、次のスクリーンが表示される。加熱されたカバーが100°Cに到達したとき、ユーザがこのディスプレイをオンにしたとき、ランは自動的に開始する。ユーザがSTOPを打った場合、ランはマニュアルで再スタートしなくてはならない。プログラムをセーブしないでRUN-STORE-PRINT-HOMEメニューにおいてHOMEを受け取ると、スクリーンが表示される。

【0350】

【表11】

Prog #xxx not stored
 Continue? YES

ユーザがランタイムプリンタのオンを構成し、そしてサイクル、オートまたは方法のプログラムを実行している

50 保持プログラム

III

【0351】

【表12】

HOLD #xxx xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME
PROGRAM display

Hold at xx.xC
Hold FOREVER-xxx:xx

ユーザは無限のソーグまたは時間限定した保持の間を選択することができる。

【0352】

【表13】

Hold at xx.xC xx.xC
xxx:xx Prog xx
RUNTIME display

HOLD #xx xx.xC
PAUSE xx:xx
KEYPAD PAUSE display

10 ピーパーは1秒毎に1回音を出す。

保持プログラムランタイムの表示

【0353】

【表14】

None

MORE display

None

PROGRAMMED PAUSE

保持プログラムランタイムのプリントアウト

PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

x 1990年11月14日 xx:xx AM

管の型：MICRO 反応体積：100 μl 開始クロック 設定点のx. x°C
以内

HOLDプログラム#xxx

HOLDプログラム：xx. x°C xxx:xx 実際：xx. x°C xxx
:xxまたはHOLDプログラム：xx. x°C FOREVER 実際：xx. x°C xx
x:xxHOLDプログラム#xxx-ランの完結 1990年11月14日 xx:x
x AMサイクルのプログラム

【0354】

【表15】

CYCL #xxx xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME
PROGRAM display

x Temperature PCR

点の数を決定する。1~9の設定点が許される。

【0355】

40 【表16】

Setpt #1 Ramp xx:xx
xx.xC Hold xx:xx

上で入力した設定点の数は、どれだけ多くの設定点の編集の表示されるかを決定する。ユーザは各設定点のランプおよび保持時間を入力することができる。試料温度が設定点のユーザが構成可能である温度内に入るとき、保持タイマはスタートされるであろう。

不履行は3である。これはこのプログラムにおける設定

50 【0356】

113

【表17】

Total cycles = xx
Pause during run? NO

ユーザがポーズを欲しない場合、次の3つの表示がスキップされる。1~99サイクルは可能である。

【0357】

【表18】

Pause after setpt #x
Beep while pause? YES

設定点の数について0を入力することは、ユーザがポーズを望まないことを意味し、したがって次の2つの表示がスキップされる。

【0358】

Ramp to xx.xC xx.xC
xxx:xx Cycle xx

RUNTIME display (ramp)

Hold at xx.xC xx.xC
xxx:xx Cycle xx

RUNTIME display (hold)

CYCL #xxx xx.xC
PAUSE xx:xx

KEYPAD PAUSE display

サイクルのプログラムーランタイムのプリントアウト

PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

x 1990年11月14日 xx:xx AM

管の型: MICRO 反応体積: 100 μl 開始クロック 設定点のx. x°C
以内

CYCLプログラム# xxx

CYCL# xx

Setpt #x RAMPプログラム: xx. x°C xx:xx 實際: xx
. x°C xx:xxHOLDプログラム: xx. x°C xx:xx 實際: xx. x°C xx:xx
x

. (9までの設定点)

. (99までの設定点)

CYCLプログラム# xxx-ランの完結 1990年11月14日 xx:xx

x AM

CYCLプログラム# xxx-ユーザのアボート 1990年11月14日 x

114

【表19】

1st pause at cycl xx
Pause every xx cycles

サイクルの数は上で入力した合計の数に限定される。

【0359】

【表20】

10

Pause time xx:xx

不履行のポーズ時間はユーザの構成の中にセットされる。

サイクルのプログラムーランタイムのディスプレイ

【0360】

【表21】

Setpt #x Tot Cyc xx
Hrs left X.X Progxxx

MORE display

Setpt #x xx.xC
PAUSE xx:xx Cycle xx

PROGRAMMED PAUSE

115

x : x x AM (アポートの場合のみ)

オートプログラム

【0361】

【表22】

AUTO #xxx xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME
PROGRAM display

x Temperature PCR

不履行は3である。これはこのプログラムにおける設定点の数を決定する。1~9の設定点が許される。

【0362】

【表23】

Setpt #1 xx.xC
Hold for xx:xx

上で入力した設定点の数は、どれだけ多くの設定点の編集の表示されるかを決定する。ランプ時間が与えられないとき、計器は出来るだけ速くランプする。試料温度が設定点のユーザが構成可能である温度内に入るととき、保持タイマはスタートされるであろう。

【0363】

【表24】

Hold at xx.xC xx.xC
xxx:xx Cycle xx

RUNTIME display

AUTO #xxx xx.xC
PAUSE xx:xx

KEYPAD PAUSE display

オートのプログラム-ランタイムのプリントアウト
PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

x 1990年11月14日 xx:xx AM

管の型: MICRO 反応体積: 100 μl 開始クロック 設定点の x. x°C
以内

AUTOプログラム# x x x

CYCL # x x

Setpt # x RAMPプログラム: x x. x°C xx:xx 実際: x x
. x°C xx:xx

HOLDプログラム: x x. x°C xx:xx 実際: x x. x°C xx:xx

x

• (9までの設定点)

116

Setpt #1 xx.xC
change time/temp? YES

ユーザがサイクル毎に時間および/または温度の増加または減少しようとする場合、次の表示が与えられる。

【0364】

【表25】

10

xx.xC delta - x.xC
delta xx:xx

OPTIONキーは矢印を上に（サイクル毎の増加）または下に（サイクル毎に減少）トグルする。減少を可能とする最大時間は設定点の保持時間に限定される。

【0365】

【表26】

20

Total cycles = xx

9 9までのサイクルが許される。

オートプログラム-ランタイムのディスプレイ

【0366】

【表27】

Setpt #x Tot Cyc xx
Hrs left X.X Progxxx

MORE display

None

PROGRAMMED PAUSE

(99までの設定点)

CYCLプログラム#xxx-ランの完結 1990年11月12日 xx:x

x AM

CYCLプログラム#xxx-ユーザのアポート 1990年11月12日 x

x:xx AM (アポートの場合のみ)

方法のプログラム

【0367】

【表28】

```
METH #xxx      xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME
PROGRAM display
```

Link progs: - - -

17までのプログラムがある方法においてリンクすることができます。ユーザが存在しないプログラム#を入力しようとする場合、メッセージ「プログラムは存在しない」が表示される。ユーザが他の方法を入力しようとすると、メッセージ「方法をリンクすることができない」が表示される。

【0368】

【表29】

*30

方法のプログラム-ランタイムのプリントアウト

PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

x 1990年11月14日 xx:xx AM

管の型: MICRO 反応体積: 100 μl 開始クロック 設定点のx. x°C
以内

METHODのプログラム#xxx
のデータに先行する
METHODのプログラム#xxx
プログラムデータに従う

-すべてのリンクされたプログラム

-方法の完結-すべてのリンクした

方法のプログラム-プリント

【0371】

【表32】

```
Select option
METHOD-PROGRAM DATA
```

METHOD この方法においてリンクした各プログラムのヘッダをプリントする。

PROGRA DATA この方法においてリンクした

各プログラムのヘッダおよび内容をプリントする。

プログラムの記憶

STOREがRUN-STORE-PRINT-HOMEメニューから選択されるとき、プログラムを記憶するルーチンはファイルならびに方法についてと同一である。プログラムを保護することによって、プログラムがユーザの数を知らないでオーバーライドするか、あるいは消去されることがないことが保証される。他のユーザは彼らの方法において保護されたファイルを見、編集、実行し、そしてリンクすることができるが、記憶された

(61)

特開平6-233670

119

バージョンを変更することができるであろう。

【0372】

【表33】

Store
Enter program #xxx

xxxは1~150の最初の利用可能なプログラムである。

【0373】

【表34】

Progxxx is protected
Enter user #xxxx

ユーザは保護されたプログラムの#を入力した。正しいユーザの#はこのプログラムをオーバーライトするために入力されなくてはならない。

【0374】

【表35】

Progxxx is protected
Wrong user number!

誤ったユーザの#が入力された。このディスプレイは5秒間止まった後、前のものに戻る。ユーザは正しい#を入力するために3回のチャンスが与えられる。

【0375】

【表36】

Progxxx is linked in
Methxxx Continue? YES

存在するプログラムをオーバーライトできる状態にある。プログラムが保護される場合のみ、ユーザ#は現れる。

実用性のファンクション

【0380】

【表41】

Select function
DIR-CONFIG-DIAG-DEL
UTIL display

DIRは、それらのプログラムの数、ユーザの数または

10

*ユーザがある方法においてリンクされたプログラムをオーバーライトしようとする場合、ユーザは警告されそして連続するか、あるいはしないオプションを与えられる。

【0376】

【表37】

Can't overwrite prog
Linked in method xxx

10 ユーザが他の方法においてリンクされたプログラムをオーバーライトしようとする場合、エラーの方法が与えられる。

【0377】

【表38】

Store
Protect program? NO

20 ユーザはプログラムを保護しながらびに前に保護されたプログラムを脱保護するチャンスを与えられる。

【0378】

【表39】

Store
Enter user #xxxx

30 ユーザはプログラムを保護し、したがってユーザ#を入力しなくてはならない。利用可能なスロットの中にプログラムを記憶できる状態にある。プログラムが保護される場合のみ、ユーザ#は現れる。

【0379】

【表40】

Prog #xxx User #xxxx
OK to overwrite? YES

40 プログラムの型により、記憶されたプログラムのディレクトリをユーザが見るか、あるいはプリントできるようになる。

CONF I Gは、特別の必要性に計器の使用をユーザが調整できるようにさせる。

【0381】D I A Gは、ランタイムの問題を診断そして計器の性能を評価する手段をユーザに提供する。D E Lは、プログラムの数、ユーザの数またはプログラムの型により記憶されたプログラムをユーザが消去できるようにする。

実用性-ディレクトリ

50 【0382】

121

【表42】

**Directory
PROG-TYPE-USER-PRINT**

プログラム数によるディレクトリ

【0383】

【表43】

**Directory
Enter program #xxxx**

プログラムは所定の数でスタートする数の順序で記載されるであろう。STEPキーおよびBACKキーをディレクトリ表示を通して動く。ビーパーは記載したプログラムの開始または終わりにおいて音を発する。

【0384】

【表44】

HOLD #124

STOPはユーザに上の表示に戻るようにさせる。プログラムタイプによるディレクトリ

【0385】

【表45】

**Directory
HOLD-CYCL-AUTO-METH**

プログラムの数は、選択した型のプログラムについて記載されるであろう。

【0386】

【表46】

CYCL #15

ユーザ数によるディレクトリ

【0387】

【表47】

**Directory
Enter user #xxxx**

所定のユーザの数の下に記憶されたすべてのプログラムは記載されるであろう。

【0388】

【表48】

10

METH #150 User #1234

ディレクトリプリント

【0389】

【表49】

**Directory Print
PROG-TYPE-USER**

ユーザはディレクトリが上で見られたのと同一の方法で記載されるディレクトリのハードコピーを得ることができる。

実用性—ユーザの構成

【0390】

【表50】

**Configuration
EDIT-PRINT**

20

ファイルの構成は、メニューからEDITを受け取るか、あるいはSTEPキーを押すことによって編集することができる。PRINTはこのファイルの内容をプリントする。

【0391】

【表51】

**Time: xx:xx
Date: mm/dd/yy**

30

ユーザはシステムの時間および日付をセットすることができる。

【0392】

【表52】

**Runtime printer OFF
Runtime beeper ON**

40 ランタイムのプリンタがONである場合、ユーザは各ランのスタートとしてプリンタのオプションで促進される。ランタイムのビーパーがONである場合、プログラムを実行する間ビーパーは各セグメントの終わり（シーケンスのランプまたは保持部分後）音を出す。

【0393】

【表53】

**Pause time-out limit
xx:xx**

50

123

この時間は、プログラムがアボート前にポーズすることができる時間の最大量を表す。これはキーパッドのみに関する。

【0394】

【表54】

Allowed setpt error
x.x°C

この時間は、実際の試料温度がエラーがフラグされる前に設定点から変化できる度数を表す。 10

【0395】

【表55】

Idle state setpoint
xx°C

この設定点は、常に存在する制御の冷却電力をバランスするために有用である。試料温度は、計器がアイドルで 20
あるときはいつでも、アイドル状態に維持される。

【0396】

【表56】

Start clock within
x.x°C of setpoint

実行するプログラムのセグメントを時間決定するクロックは、それが試料温度のこの温度内を獲得するとき、トリガされるように構成することができる。通常の値は 1. 0 °Cである。

【0397】

【表57】

Special tube? NO

ユーザーがMicroAmpまたは薄い壁のGeneAm pの管以外の異なる型を使用しようとする場合、ユーザーはYESに対してこのオプションをセットし、そして少なくとも3対の反対体積および管の時間定数のデータを入力しなくてはならない。この曲線を使用して、ランの開始のときユーザーが入力した反応体積に依存して、各ランについて正しいタウ（管の時間定数）を外挿することができます。

【0398】

【表58】

Rxn vol=xxxxuL T=xxxxs
Rxn vol=xxxxuL T=xxxxs

ユーザーが「特別の管」をYESにセットした場合、3組のスクリーンが与える。

実用性-消去

【0399】

【表59】

Delete
PROGRAM-USER-ALL

プログラムによる消去

【0400】

【表60】

Delete
Enter program #xxxx

すべてのプログラム（ファイルおよび方法）は数により消去することができる。

【0401】

【表61】

Can't delete progxxxx
Linked in methodxxx!

プログラムはそれをある方法においてリンクした場合消去することができない。

【0402】

【表62】

Progxxxx is protected
Enter user #xxxx

ユーザーは保護されたプログラムの#を入力した。正しいユーザーの#を入力して、このプログラムを消去しなくてはならない。

【0403】

【表63】

125

**Progxxx is protected
Wrong user number!**

誤ったユーザの#が入力された。この表示が5秒間止まった後、前の表示に戻る。ユーザには正しい#を入力する3回のチャンスを与えられる。

【0404】

【表64】

**Prog #xxx User #xxxx
Delete program? YES**

プログラムの消去状態。ユーザ#はプログラムが保護されたとき現われる。

ユーザによる消去

【0405】

【表65】

**Delete
Enter user #xxxx**

所定のユーザの数が与えられた後、プログラムを消去することができる。

【0406】

【表66】

**Delete
No progs with #xxxx**

所望のユーザの#でプログラムが存在しない場合、次のメッセージが表示される。

【0407】

【表67】

**Progs linked in meth
STEP to list progs**

プログラムがある方法においてリンクされる場合、プログラムを消去することができる。STEPキーでリンクしたプログラムのリストを通してサイクルするであろう。

【0408】

【表68】

**Can't delete progxxx
Linked in methodxxx!**

リンクしたプログラムのリストは、どの方法でプログラムをリンクしたかを示すであろう。

【0409】

126

【表69】

**User #xxxx
Delete all progs? YES**

これはリンクされていない所定のユーザの#のすべてのプログラムを消去しないであろう。

10 全消去

【0410】

【表70】

**Delete every
unprotected prog? YES**

これは保護された方法でリンクされない、すべての保護されてないプログラムを消去するであろう。

実用性—ユーザの診断

20 診断テストを実行している間、STOPキーはユーザをトップレベルの診断スクリーンにユーザを常に戻し、そしてテストの数および名前を次のテストに自動的に増加する。これは有効な診断を通るサイクリングをマニュアルに促進する。

【0411】

【表71】

**Enter Diag Test #1
REVIEW HISTORY FILE**

30

ユーザは診断を実行する数を入力することができるか、あるいはSTEPまたはBACKキーを使用して有効なテストを通してサイクリングすることができる。STEPまたはBACKキーを押す毎に、テストの数は増減され、そして関連するテストの名前が表示される。この特徴は、ユーザが各テストに関連する数を記憶する必要性を排除する。

履歴ファイルのレビュー

【0412】

【表72】

**Enter Diag Test #1
REVIEW HISTORY FILE**

履歴ファイルは、500までの最近のランのレコードを記憶することができる、バッテリーRAM中の循環バッファである。バッファが充満されているとき、最も古い入力はオーバーライトされるであろう。バッファは自動的にクリアされた後、プログラムは実行される。

50 【0413】

【表73】

HISTORY nnn recs
ALL-STAT-ERRORS-PRNT

履歴ファイルのヘッダはファイル中の現在のレコードの数（「n n n」）を表示する。ALLはすべてのレコードを見る。ATARTは状態のレコードのみを見る。ERRORSはエラーのメッセージをもつレコードのみを見る。PRNTは履歴ファイルのすべてまたは一部分をプリントする。レコードの2つの型は、1) プログラムについての情報を与える状態のレコードおよびプログラムにおいて各保持およびランプセグメントについての情報を与えるデータのレコードである。保持プログラムは1つの保持セグメントとして処理され、そしてデータのレコードはファイルが終わるとき記憶されるであろう。数百の入力（50サイクル×6設定点=350入力）が存在できるので、ファイルを通る2方向の動きが要求される。ほとんどのプログラムはPCRプログラムは3または6設定点および40以下であることに注意する。入力は通常逆の順序で外観され、こうして見られるレコードは書き込まれた最後のレコードであろう。ユーザーが見るべきレコードの型を選択した場合、STEPまたはBACKは選択した型の1回の入力によりバッファ

状態のメッセージ

管の型：x x x x

反応体積：x x x μl

C1kスタートw/x. x°C

スタートx x/x x/x x

x x : x x

終わりx x/x x/x x : x x

方法の完結

ポーズx x : x x, x x. x°C

を上下するであろう。STEPまたはBACKの前にある数を置くことによって、第2ラインを「スキップ# x x x 入力」で置換する。ユーザはある数を入力し、そしてENTERを押してその値を受け取り、そして入力の数はスキップされ、前進(STEP)または後進(BACK)する。STEPまたはBACKの前にRUNキーを配置することによって、ユーザは選択した型の最大のレコード# (最新のレコード) またはレコード# 1 (最も古いレコード) に急速に動くことができる。STOPは外観モードを停止し、そしてファイルのヘッダを表示する。

状態のレコード

【0414】

【表74】

ffff #xxx/mmm nnn
message

「f f f f」はHOLD, CYCLまたはAUTOである。「x x x」はプログラムの数である。「/mmm」はリンクしたプログラムについての方法の数、そのほかにである。「n n n」はレコードの数である。「メッセージ」は次の1つである。

致命的なスタートのメッセージ

センサーのエラー

電力の故障x x x. x 時間

ユーザのアボート

ポーズ

致命的な設定点のエラー

ランにおいて使用した試料管の型

反応において使用した反応体積

保持クロックは設定点のこの温度内でスタートする

ランのスタートの時間および日付

ランの終わりの時間および日付

方法にリンクしたすべてのプログラムは完結する

プログラムはこの温度においてこの時間の間ポーズした

センサーは1列で10回の悪い読みを有した
電力はこの量の時間の間オフであった

ユーザはSTOPキーをランの間に押す

キーパッドのポーズはその構成可能な時間限界に到達した。

計算した量の時間以内に設定点に到達しない場合、プログラムをアボートするための要件である。開始ランプ温度(0°C~100°C、10°Cの増分)対終了のランプ温度(同一軸のラベリング)の10×10のルックアップテーブルは、TC2が任意の所定量の度でランプを上下するために要する平均時間である

プログラム可能なランプ時間 + (2 * ルックアップテーブルの値) + 10分

データのレコード

「f」はHOLD, CYCLまたはAUTOである「x
xx」はプログラムの数である

【0415】

【表75】

```
f#xxx/mmm ddd.dc nnn
Cycyy Setpt z mmm:ss
```

「/mmm」はリンクしたプログラムそのほかにプランクについての方法の数である

「ddd. d」は設定点の温度である

「nnn」はレコードの数である

「yy」はサイクル数である

「z」は設定点の数である

「mmm. ss」は設定点の時間である

サイクルおよび設定点の数のファイルは保持プログラムのために省略されるであろう。

データエラーのレコード

【0416】

【表76】

```
message ddd.dc nnn
Cycyy Setpt z mmm:ss
```

「ddd. d」は終わりの設定点の時間である

「nnn」はレコード数である

「yy」はサイクル数である

「z」は設定点の数である

「mmm. ss」は設定点の時間である

「メッセージ」は、次のように非致命的エラーを示す：
非致命的エラーのメッセージ

ステップのエラー 設定点は計算した時間で到達しなかった：

プログラム可能なランプ時間 + (2 * ルックアップテーブルの値)

プログラムのエラー 設定点の温度または時間の自動的プログラムの自動的増加／減少は、保持時間をネガティブに進行させるか、あるいは時間を0. 1 ~ 100°Cの中から外に進行させる。

【0417】 温度のエラー セグメントの終わりにおいて、設定点の温度は+/-ユーザの構成量でドリフトした。保持プログラムについて、サイクルおよび設定点のフィールドは省略されるであろう。

履歴ファイルをプリントする

う。設定点が次のようにして計算した量の時間で到達しない場合、ファイルはアボートされるであろう。

履歴ファイルのヘッダのメニューを通して、履歴ファイルのプリントのルーチンにアクセスする。OPTIONのキーはオプションを通してカーソルをサイクルする。

【0418】

【表77】

HISTORY	nnn recs
ALL-STAT-ERRORS-PRNT	

PRNTがプリントスクリーンを表示している位置にカーソルがあるとき、ENTERキーを押す：

【0419】

【表78】

Print History	
ALL-STAT-ERRORS	

ALL ファイル中のすべてのレコードをプリントする
STAT 状態のレコードのみをプリントする
ERRORS エラーのメッセージをもつレコードのみをプリントする

プリントのオプションの1つが選択されるとき、次のスクリーンが表示される：

【0420】

【表79】

Print History	
Print from prog #xx	

第1(最も最近)のプログラム数は不履行のプログラムであろう。ユーザはプリントを開始すべきプログラムの数を変化させることができる。プリントの間、次のスクリーンが表示される：

【0421】

【表80】

Print History	
...printing	

プリントの終わりにおいて、プリントの履歴のメニューが再び表示される。

ヒータのテスト

【0422】

【表81】

**Enter Diag Test #2
HEATER TEST**

ヒータのテストは、その温度が35°Cから65°Cに上昇するとき試料ブロックの加熱速度を計算する。それがブロック温度を35°Cに戻すとき、次のスクリーンが表示される。

【0423】

【表82】

**Heater Test Blk=XX.X
going to 35C...**

温度が安定化したとき、すべてのヒータは全電力のオンにされる。ここで表示は「60°Cに行く」を読み、そしてブロック温度はそれが50°Cを通過した後20秒間モニターされる。20秒後、合格または不合格のメッセージが表示される。

【0424】

【表83】

Heater Test PASSES

冷却テスト

【0425】

【表84】

**Enter Diag Test #2
CHILLER TEST**

冷却テストは、試料ブロックの温度が35°Cから15°Cに低下するとき、試料ブロックの冷却速度を計算する。それがブロック温度を35°Cにさせるとき、次のスクリーンが表示される。

【0426】

【表85】

**Chillr Test Blk=XX.X
going to 35C...**

温度が安定化されるとき、冷却はオンである。ここで「15°Cに行く」を読み、そしてブロック温度はそれが25°Cを通過した後20秒間モニターされる。20秒間、合格または不合格のメッセージが表示される。

【0427】

【表86】

Chiller test PASSES

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の教示に従うサーマルサイクラーのプロック線図である。

【図2】本発明の教示に従う試料ブロックの平面図である。

10 【図3】バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルを示す試料ブロックの側面図である。

【図4】試料ブロックの端面図である。

【図5】試料ブロックの端面図である。

【図6】図2中の切線6-6'に沿って取った試料ブロックの断面図である。

【図7】図2中の切線7-7'に沿って取った試料ブロックの断面図である。

【図8】図2中の切線8-8'に沿って取った試料ブロックの断面図である。

20 【図9】3ゾーンのフィルムヒータおよびブロック支持体とのアセンブリー後、試料ブロックの構造の断面、側面図である。

【図10】3ゾーンのフィルムヒータに対して電力制御の形態を示す電力ライン電圧のグラフである。

【図11】典型的な3インキュベーションPCRプロトコルを示す温度のグラフである。

【図12】局所的ゾーンの概念を示す試料ブロックの断面図である。

【図13】3ゾーンのヒータの平面図である。

30 【図14】低すぎる試料管配置力Fのτの作用を示す、試料温度対時間のグラフである。

【図15】試料ブロックの中に配置された試料管およびキャップの断面図である。

【図16】(A) R C回路のインパルスの応答のグラフである。(B) インパルス励起パルスのグラフである。

(C) ブロックの熱インパルスの応答および温度履歴の回旋が計算した試料温度を与える方法を示すグラフである。(D) 試料ブロック/試料管システムの熱的応答の電気的アナログを示す。

40 【図17】3ゾーンのヒータの制御に使用する方程式についての比例定数が適切にセットされるとき、6つの異なる試料のすべての計算した温度が標的温度上で互いに約0.5°C以内へ収束する仕方を示す。

【図18】変性標的温度が発生したDNAの量に影響を与える方法を示すグラフである。

【図19】スライドカバーおよび加熱された定盤の断面図である。

【図20】スライドカバー、試料ブロックおよび加熱された定盤の下降に使用したノブの斜視図である。

50 【図21】(A) 試料ブロック上に配置されたときの、

フレーム、リティナー、試料管およびキャップの1つの実施態様のアセンブリーの断面図である。(B) 試料ブロック上に配置されたときの、フレーム、リティナー、試料管およびキャップの好ましい実施態様のアセンブリーの断面図である。

【図22】マイクロタイタープレートについてのプラスチックの使い捨てフレームの上、平面図である。

【図23】フレームの底、平面図である。

【図24】フレームの端、側面図である。

【図25】フレームの他の端、側面図である。

【図26】図22における切線26-26'に沿って取ったフレームの断面図である。

【図27】図22における切線27-27'に沿って取ったフレームの断面図である。

【図28】フレームのへりの側面図および部分断面図である。

【図29】好ましい試料管の断面図である。

【図30】試料管の上部の断面図である。

【図31】キャップのストリップの部分の側面図である。

【図32】キャップのストリップの一部分の上面図である。

【図33】96ウェルのマイクロタイタートレーのプラスチックの使い捨てリティナー部分の上、平面図である。

【図34】リティナーの部分的区画の側面図である。

【図35】リティナーの端、側面図である。

【図36】図33における切線36-36'に沿って取ったリティナーの断面図である。

【図37】図33における切線37-37'に沿って取ったリティナーの断面図である。

【図38】96ウェルのマイクロタイタートレーのプラスチックの使い捨て支持体のベースの平面図である。

【図39】ベースの底平面図である。

【図40】ベースの側面図である。

【図41】ベースの端側面図である。

【図42】図38において切線42-42'に沿って取った支持体のベースの断面図である。

【図43】図38において切線43-43'に沿って取った支持体のベースの断面図である。

【図44】図38において切線44-44'に沿って取った支持体のベースの断面図である。

【図45】いくつかの試料管およびキャップが所定位置にあるマイクロタイタートレーからなる、プラスチックの使い捨て物品の分解斜視図である。

【図46】図1における冷却液制御システム24の線図である。

【図47】本発明に従う制御エレクトロニクスのプロック線図である。

【図48】本発明に従う制御エレクトロニクスのプロック

ク線図である。

【図49】本発明に従う制御エレクトロニクスのプロック線図である。

【図50】典型的な試料期間の時間ライン線図である。

【図51】商品名MAXIAMPで市販されている、高い薄い壁の試料管の側面断面図である。

【図52】薄い壁の試料管および薄い壁の先行技術の管の間の応答時間の差を示すグラフである。

【図53】試料管およびキャップの平面図である。

10 【図54】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【図55】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【図56】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【図57】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【符号の説明】

1~7…カラム

20 10…試料

12…試料ブロック

14…加熱されたカバー

16…端末

18, 22…バス

20…制御コンピュータ

24…冷却液制御システム

26…入力管

28…出力管

30, 32…管

34…熱交換器

36…入力管

38…出力管

39…溜

40…冷却装置

41…ポンプ

42…ファン

44…フイン管凝縮器

45, 46…管

47…分岐交差

40 48…熱

49…バイアス冷却チャンネル

50…管

51…レストリクター

52, 54…バス

53…入力

55…2状態のソレノイド作動弁

56…周囲空気温度センサー

57…ランプ冷却チャンネル

58…ライン

50 61…温度センサー

6 3 …センサー
 6 7 …円錐形壁
 6 8 …試料ウェル
 7 0 …溜
 7 8 …みぞ、スロット
 8 2 …点
 8 3, 8 9, 9 0 …試料ウェル
 9 1, 9 3, 9 5, 9 7, 9 9 …冷却チャンネル
 1 0 0 ~ 1 0 7 …ランプ冷却チャンネル
 1 1 6 …底面
 1 2 2 …ハイブリダイゼーションインキュベーション
 1 2 8, 1 3 0, 1 3 2 …孔
 1 3 0, 1 3 2 …ねじ孔
 1 3 4 ~ 1 4 3 …孔
 1 4 6 …ボルト
 1 4 7 …スピルカラー
 1 4 8 …はがね支持プラケット
 1 5 0, 1 5 2 …コイルばね
 1 5 4 …はがね圧力板
 1 5 6 …マルチゾーン試料ブロックフィルムヒータ
 1 5 8 …シリコーンゴムのパッド
 1 6 0 …エポキシ樹脂フォームの層
 1 6 2 …ネガティブのハーフサイクル
 1 6 4 …ポジティブのハーフサイクル
 1 6 6 …分割線
 1 7 0 …変性インキュベーション
 1 7 2 …ハイブリダイゼーションインキュベーション
 1 7 4 …伸長インキュベーション
 1 9 8 …冷却チャンネル
 2 0 0, 2 0 2 …局所的領域
 2 2 8, 2 3 0 …へりの表面
 2 3 4 …試料ウェル
 2 5 0, 2 5 2 …へり
 2 5 4 …中央ゾーン
 2 5 6, 2 5 8 …へリヒータ領域
 2 6 0, 2 6 2 …マニホールドヒータ領域
 2 6 6, 2 6 8 …プラスチック冷却液マニホールド
 2 7 6 …試料混合物
 2 8 2 …温度応答曲線
 2 8 8 …試料管
 2 9 2 …対流の流れ
 2 9 4 …ピーク
 3 1 2 …レッドスクリューアセンブリー
 3 1 6 …すべりカバー
 3 1 8 …ノブ
 3 2 0, 3 2 2 …レール
 3 2 4, 3 2 6 …試料管
 3 3 2, 3 3 4 …インデックスマーク
 3 3 6 …飾り板
 3 3 8 …プラスチックキャップ

3 4 0 …プラスチックトレー
 3 4 2 …マイクロタイタープレートのフレーム
 3 4 6 …上部のへり
 3 6 8 …円錐形プラスチック壁
 3 7 2 …水平のプラスチックプレート
 3 7 6 …試料管
 3 7 8 …内側へり
 3 8 2 …孔の対向するへり
 3 8 6 …リティナー
 10 3 9 4 …ウェブ
 3 9 6 …タブ
 4 0 2 …単一の水平のプラスチック平面
 4 1 0 …孔
 4 1 4 …プラスチックタブ
 4 1 6, 4 1 8 …スロット
 4 2 0 …ベース
 4 2 4 …典型的な試料管
 4 5 0 …マイクロプロセッサ
 4 5 2 …アドレスバス
 20 4 5 4 …データバス
 4 5 6 …E P R O M
 4 5 8 …バッテリーバックアップR A M
 4 6 0 …システムロック／カレンダー
 4 6 2 …アドレスデコーダー
 4 6 4 …チップセレクトバス
 4 6 6 …キーボード
 4 6 8 …ディスプレイ
 4 7 0 …キーボードインターフェース回路
 4 7 2, 4 7 4 …プログラム可能な間隔タイマ
 30 4 7 6 …割込みコントローラー
 4 7 8 …U A R T
 4 8 0 …R A M
 4 8 2 …プログラム可能な割り込み制御装置（P I C）
 4 8 4 …プログラム可能なアレイ論理チップ（P A L）
 4 8 6 …1 2 ビットのアナログ対デジタルコンバータ
 — (A / D)
 4 9 2, 4 9 4 …マルチブレクサ
 4 9 6 …2, 0 0 0 オームの抵抗器
 4 9 8 …+ 1 5 ボルトの調整された電力供給
 40 5 0 0 …ゼンナーダイオード
 5 0 6 …較正電圧発生器
 5 1 2 …R M S 対D C コンバーター回路
 5 1 6 …ステップーダウントランス
 5 3 0, 5 3 2, 5 3 4, 5 3 6 …光学的に連結された
 トライアックドライバー
 5 3 8 …制御バス
 5 4 6, 5 4 8 …熱的カットアウトスイッチ
 5 5 0 …「パーソナリティ」プラグ
 5 6 6 …ゼロ交差検出器
 50 5 6 8 …2 ラインバス

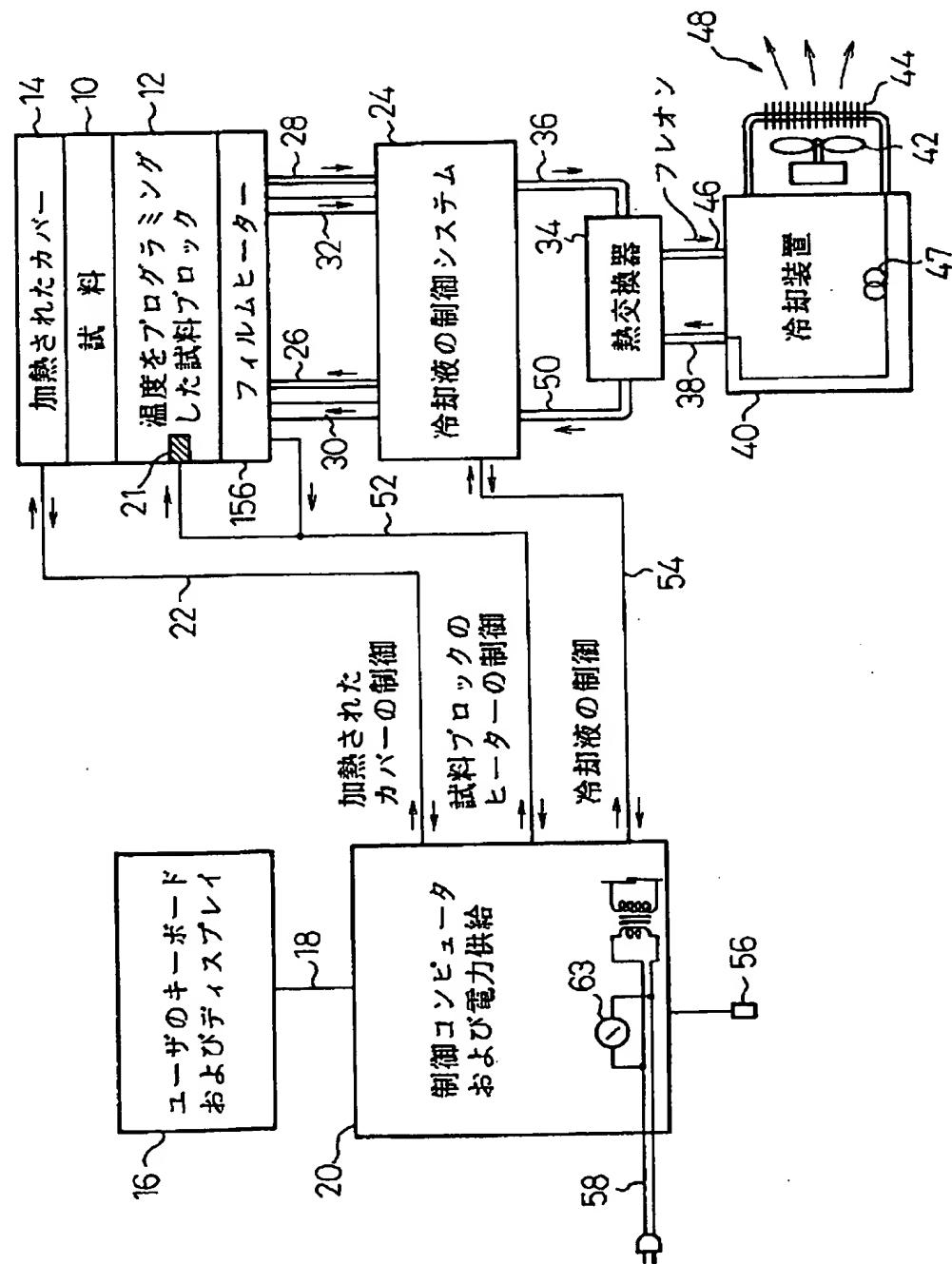
137

- 570…電力トランス
 572, 574…調整された電力供給
 576…非調整電力供給
 578…アナログ増幅器
 590…間隔
 592…開始時間
 594…時間
 600…出力ライン

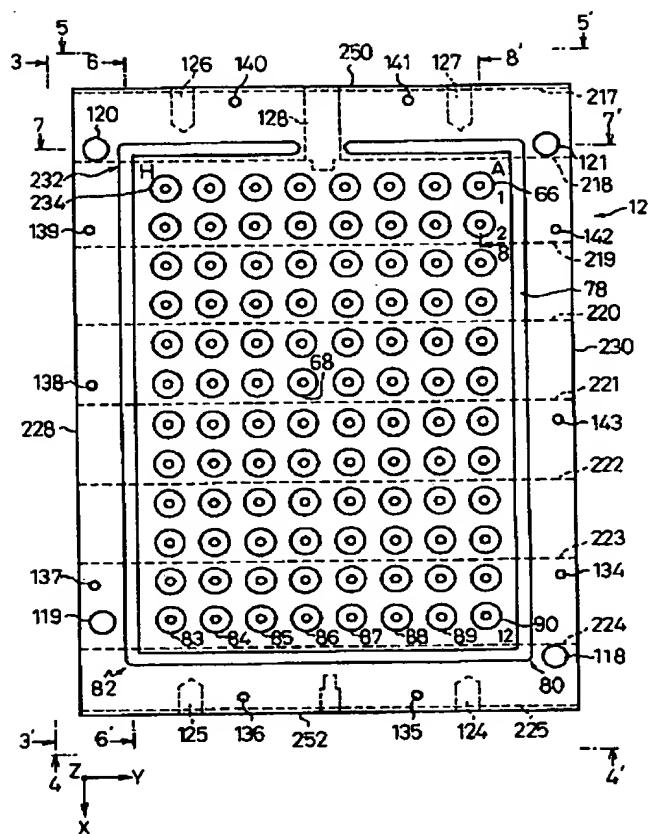
138

- 602, 604…単安定マルチバイブレータ
 614…ソレノイドコイル
 616…電力供給「レール」
 620…電流制限抵抗器
 624…ソレノイド作動弁
 632…タイムアウトワンショット
 650…ポリプロピレンのキャップ
 652…プラスチックウェブ

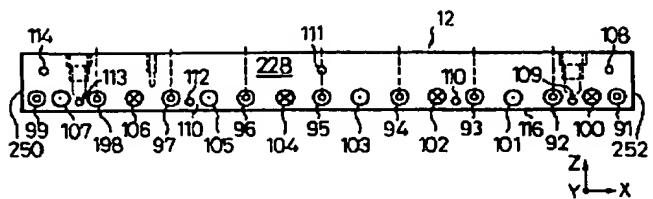
【図1】



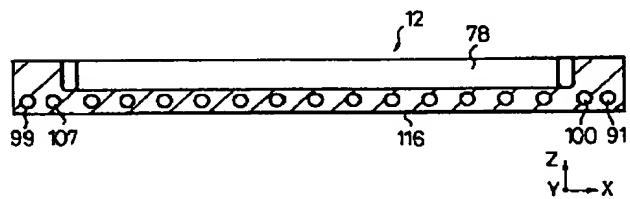
【图2】



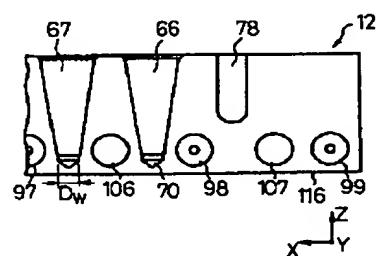
【图3】



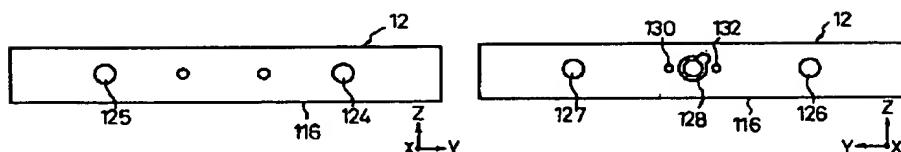
【図6】



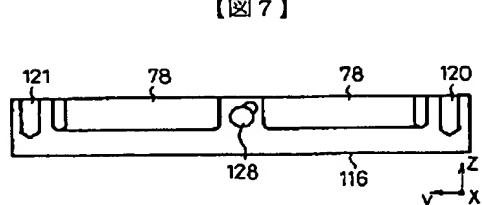
[図8]



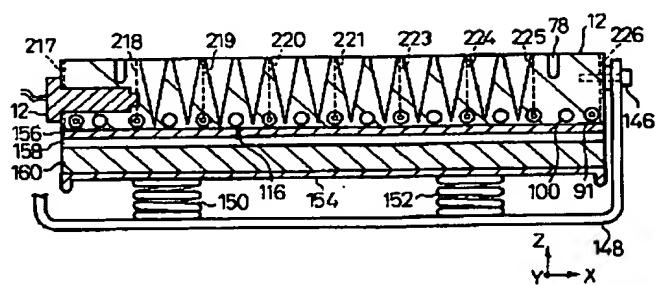
【图4】



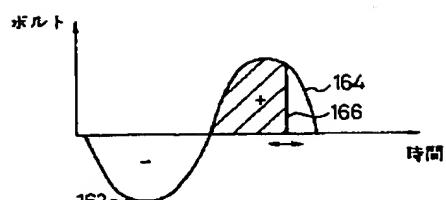
【図5】



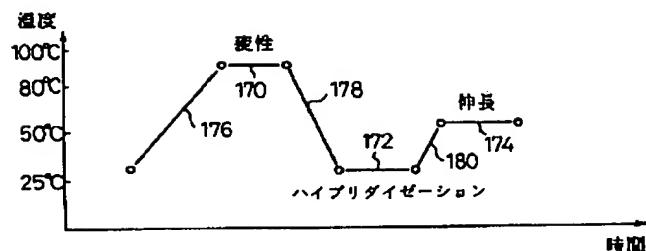
【図9】



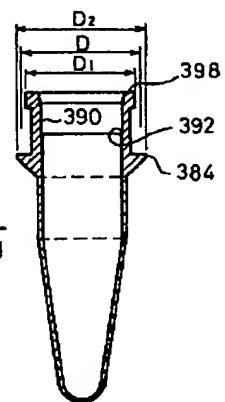
【図10】



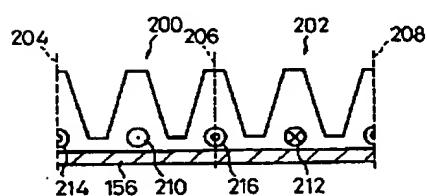
【図11】



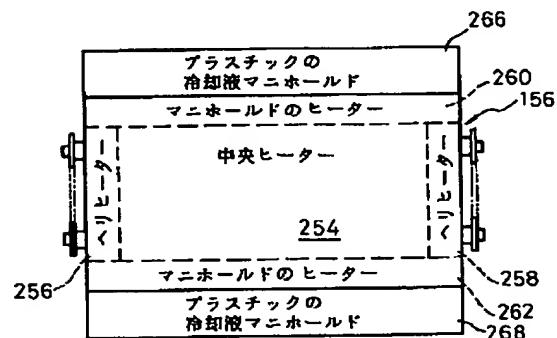
【図29】



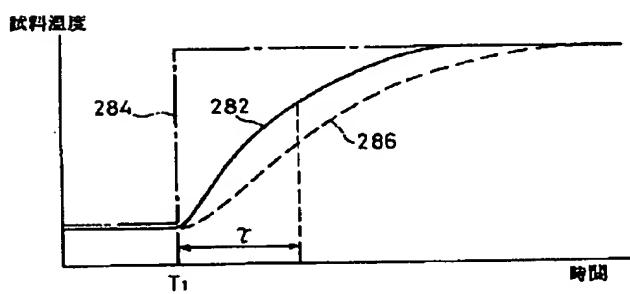
【図12】



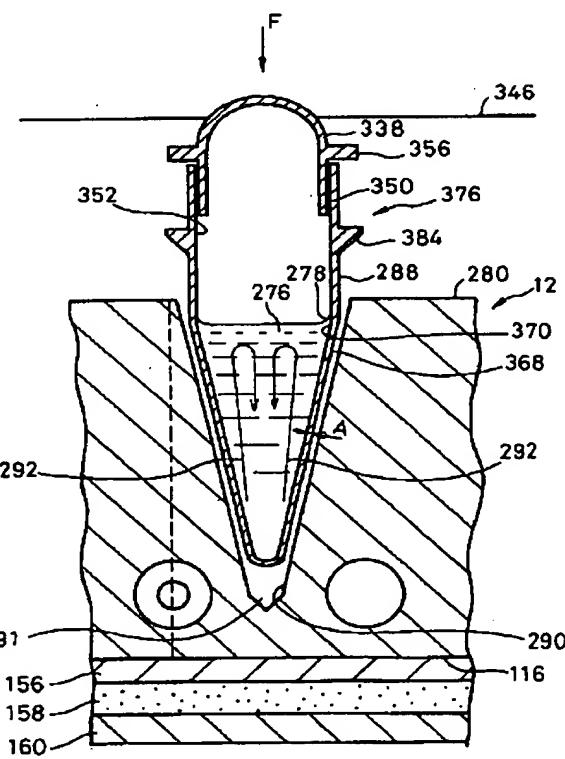
【図13】



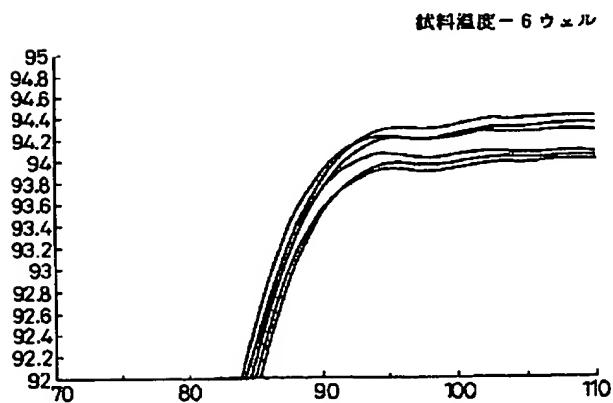
【図14】



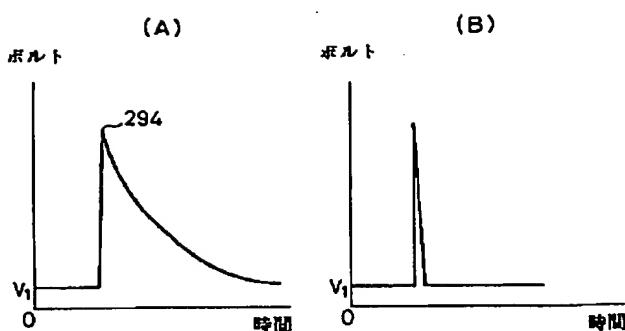
【図15】



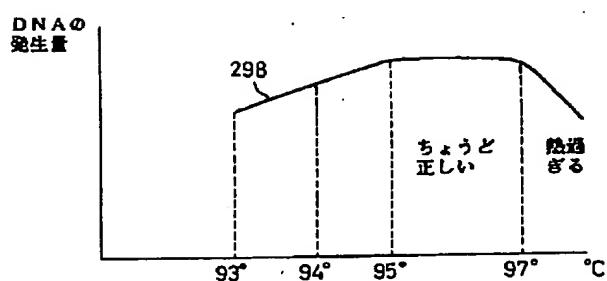
【図17】



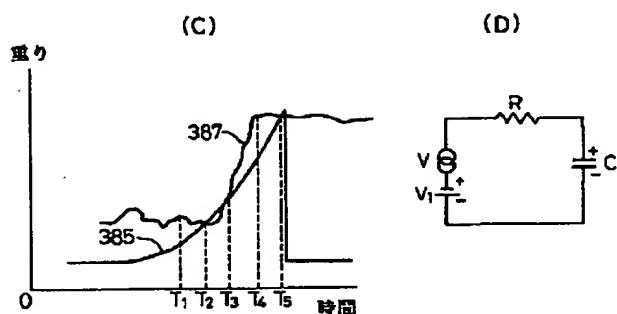
【図16】



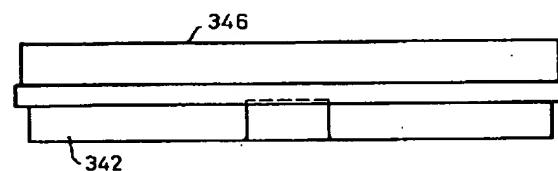
【図18】



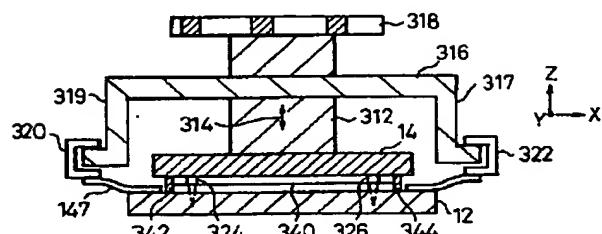
【図24】



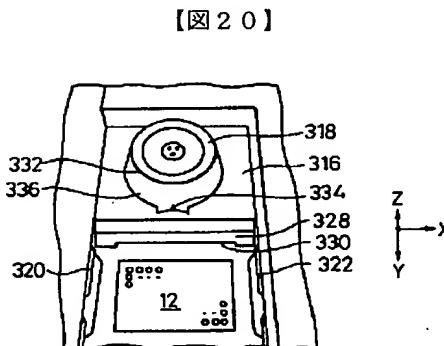
【図30】



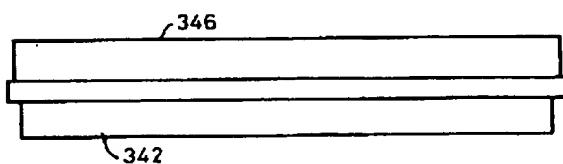
【図19】



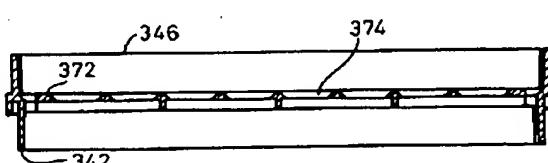
【図25】



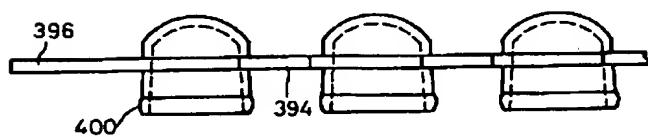
【図20】



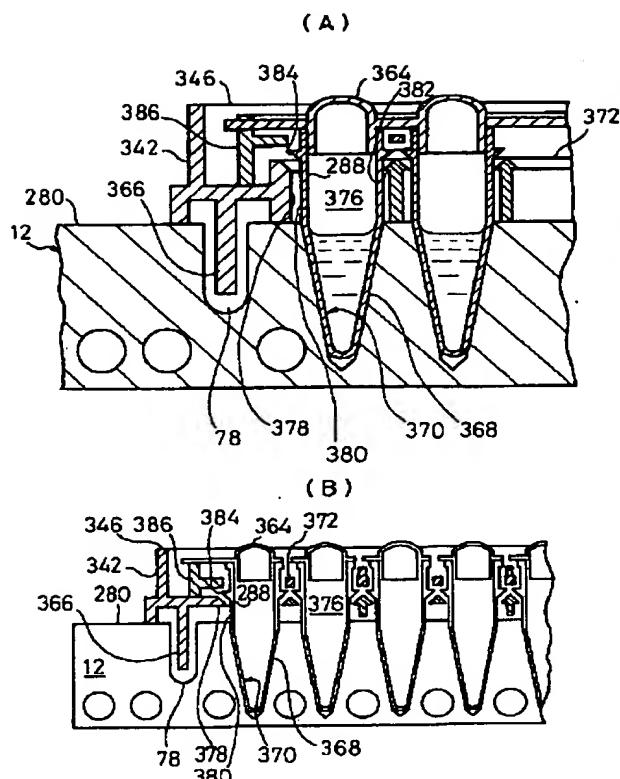
【図26】



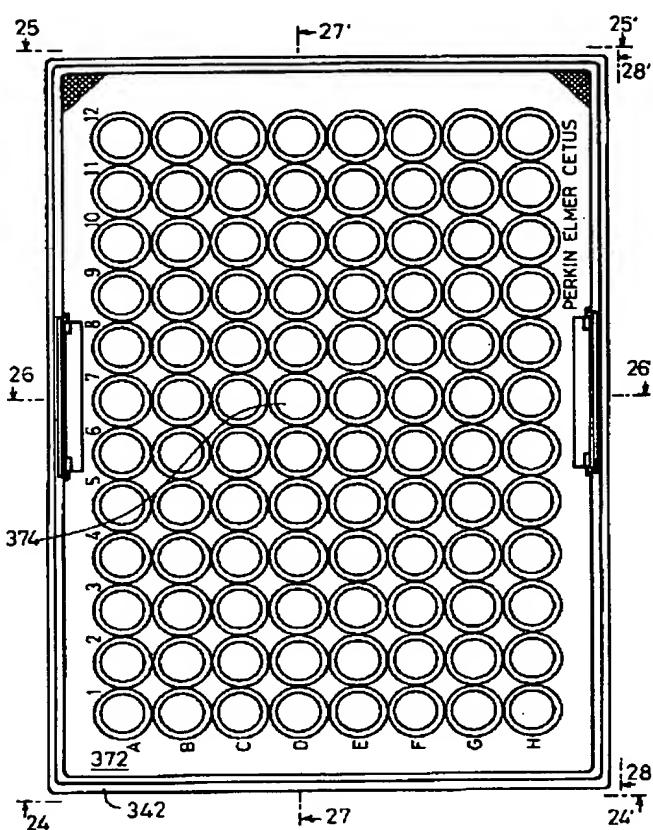
【図31】



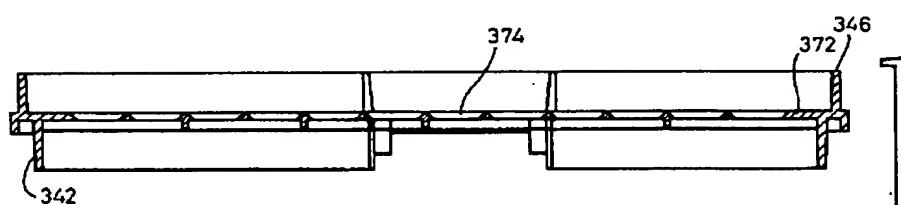
【図21】



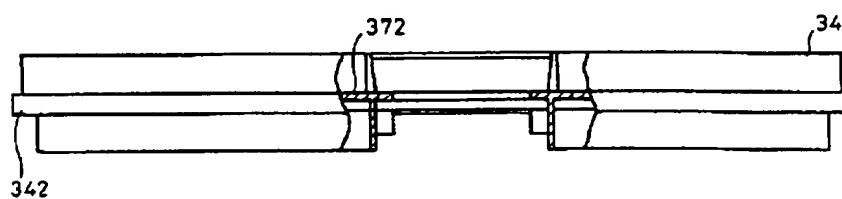
【図22】



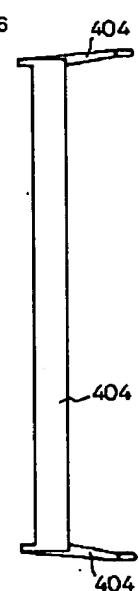
【図27】



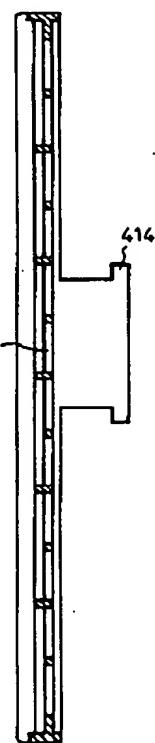
【図28】



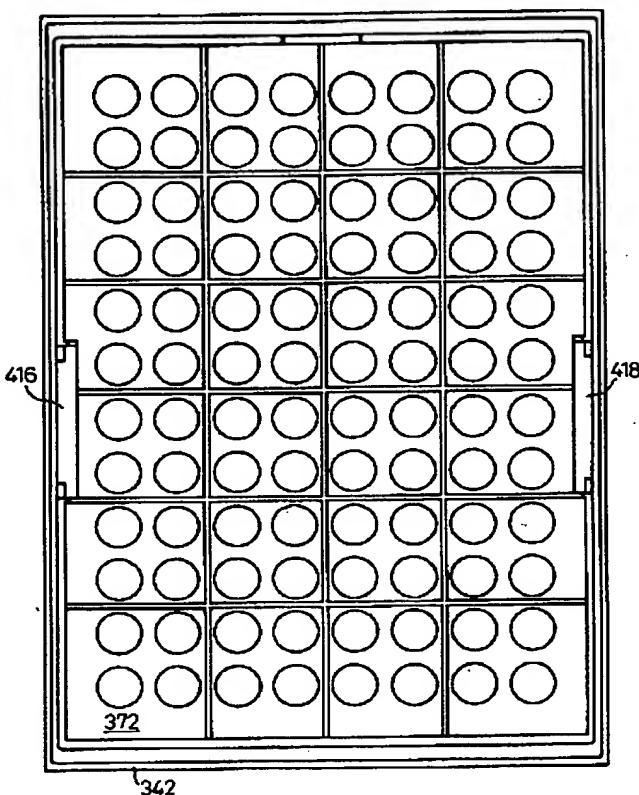
【図35】



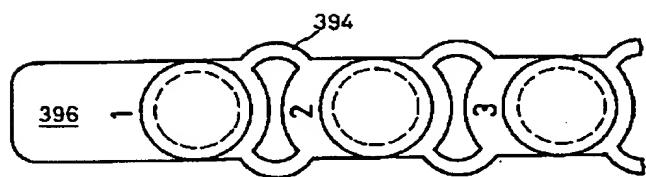
【図36】



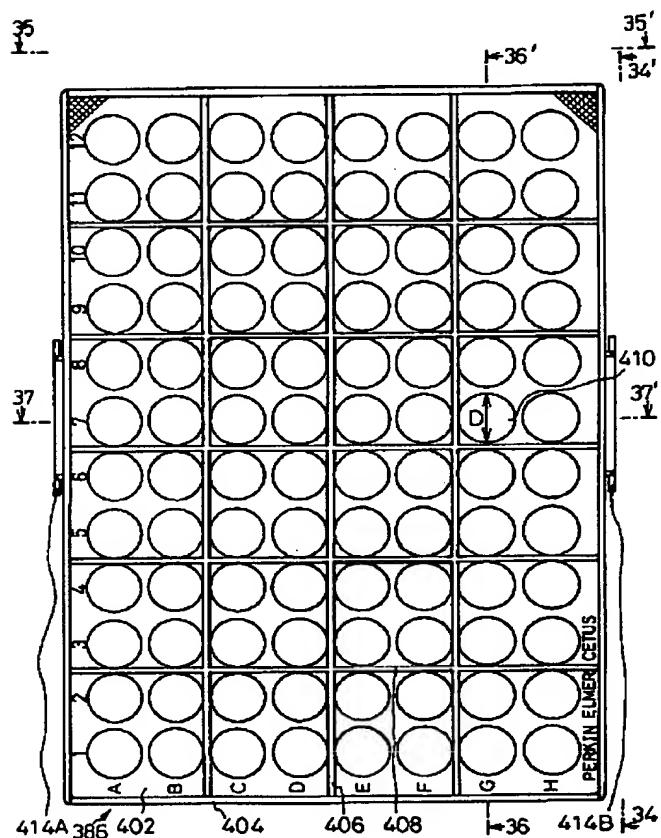
【図23】



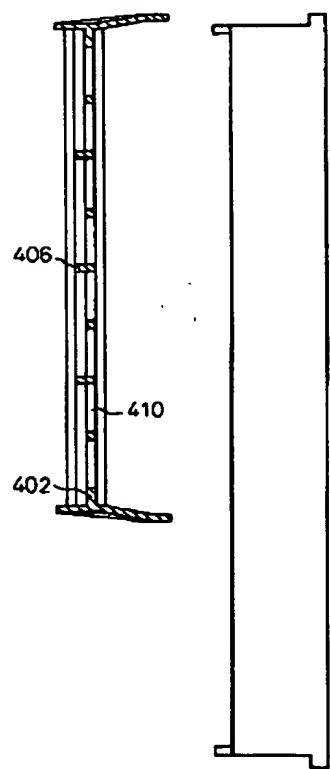
【図32】



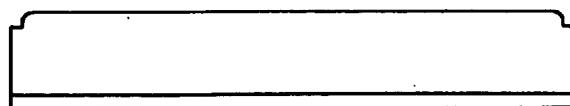
【図33】



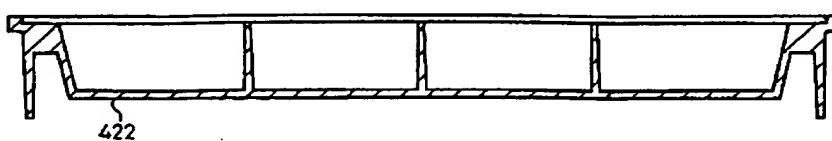
【図37】 【図40】



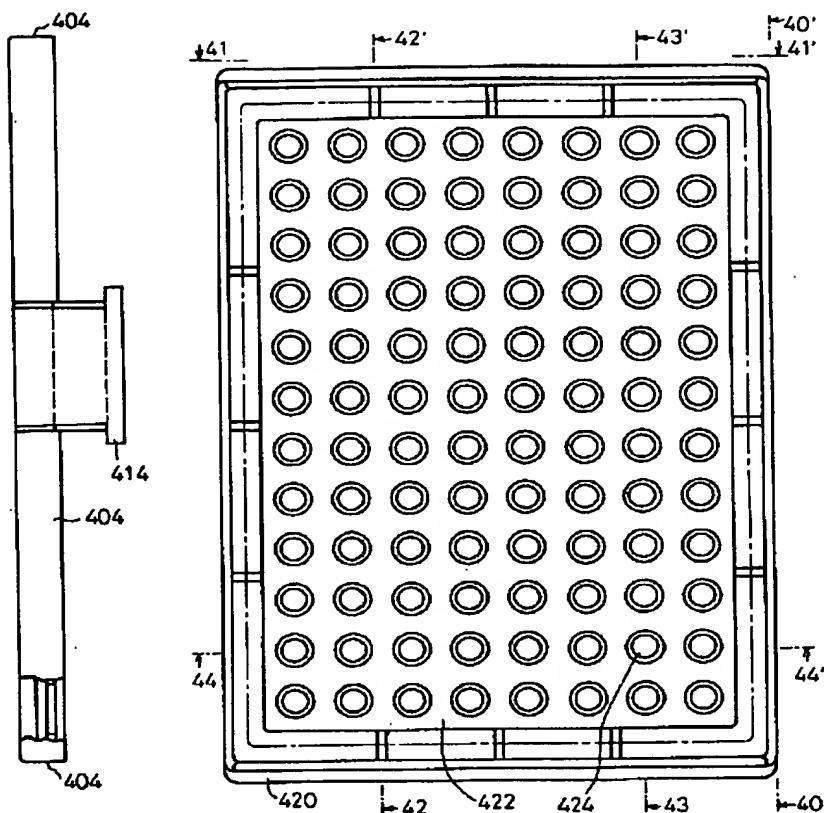
【図41】



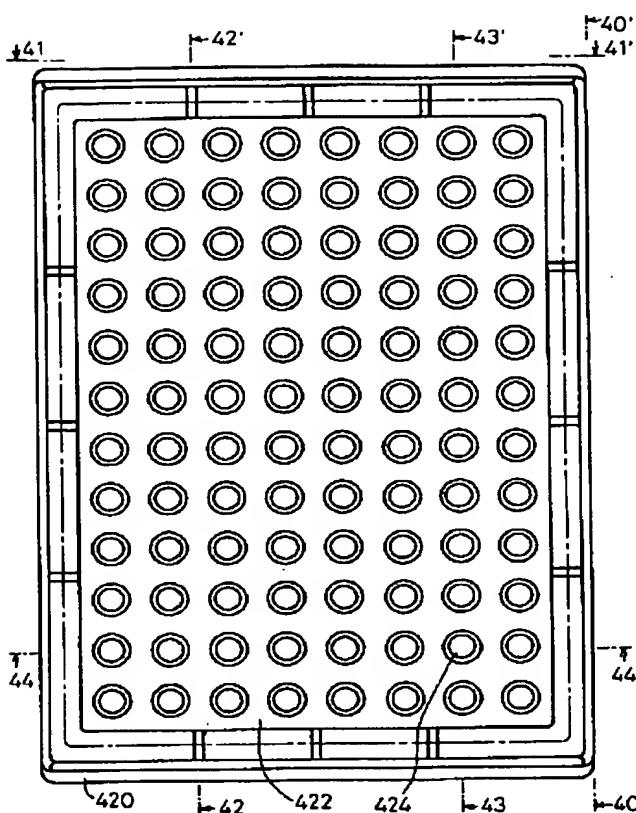
【図42】



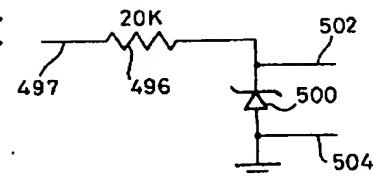
【図34】



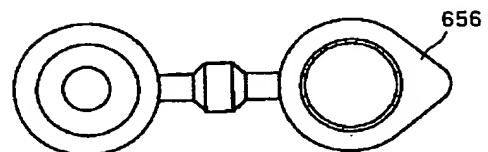
【図38】



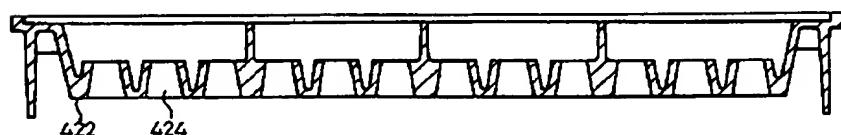
【図49】



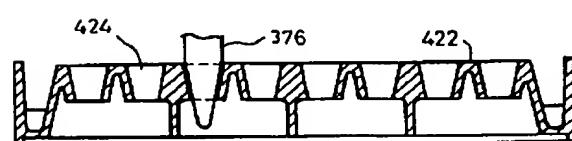
【図53】



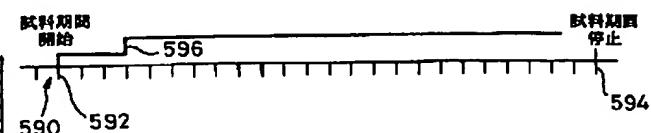
【図43】



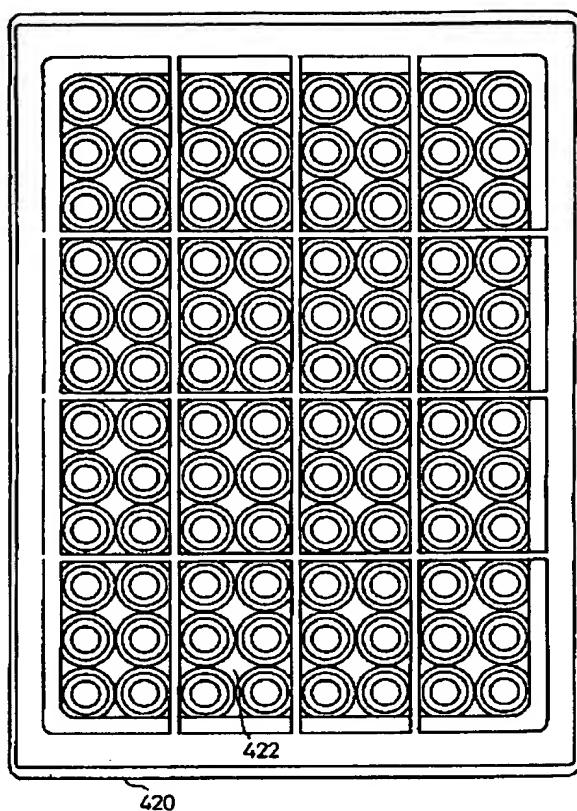
【図44】



【図50】

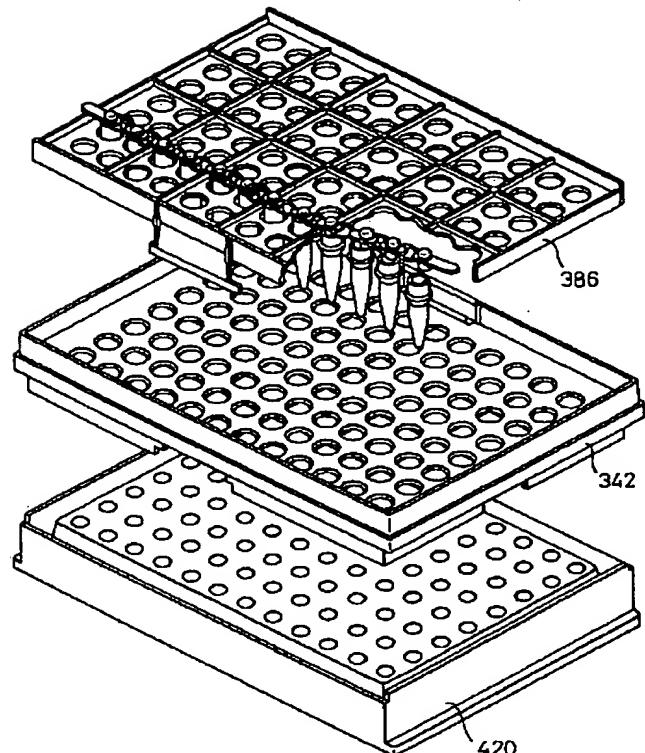


【図39】

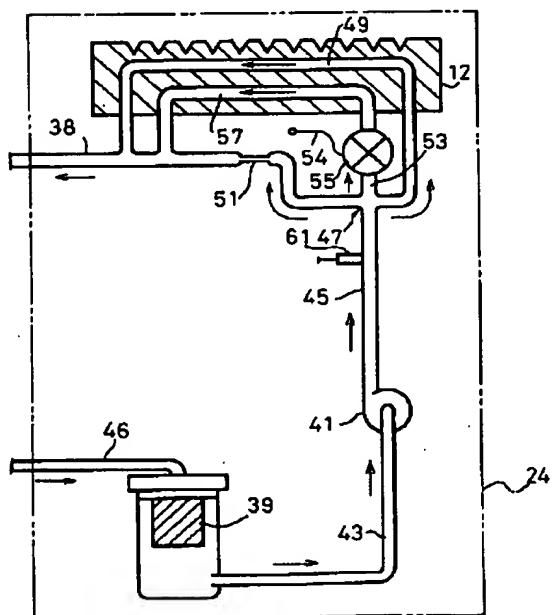


420

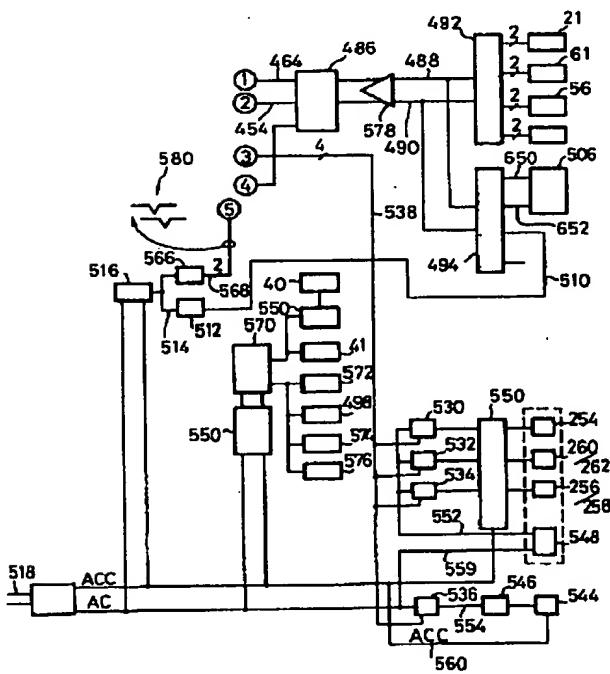
【図45】



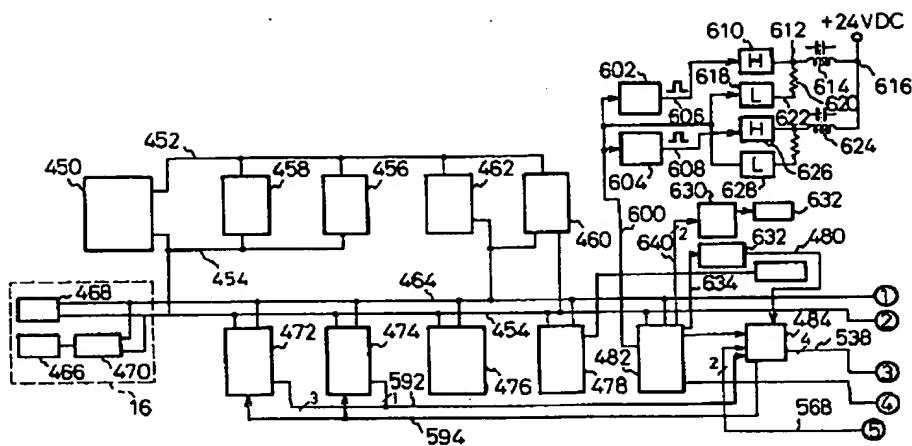
【図46】



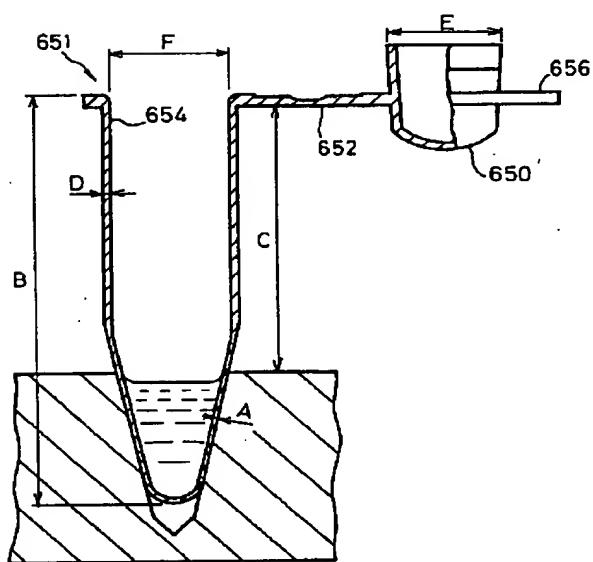
【図47】



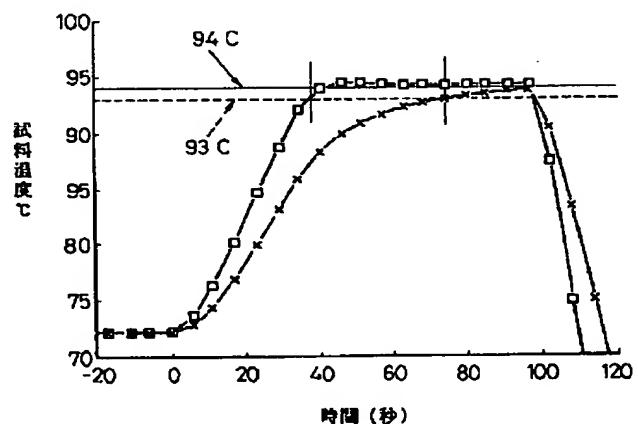
【図48】



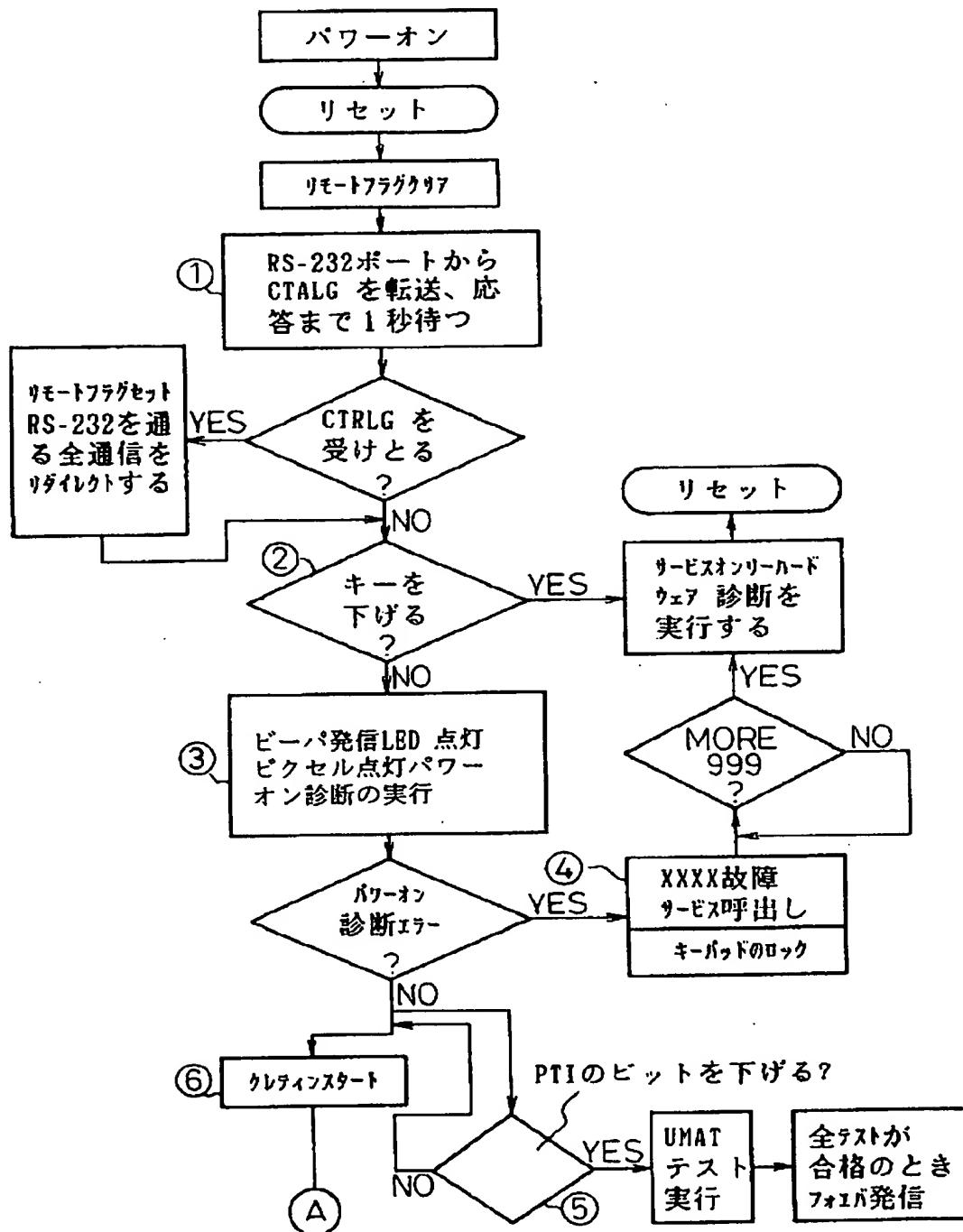
【図51】



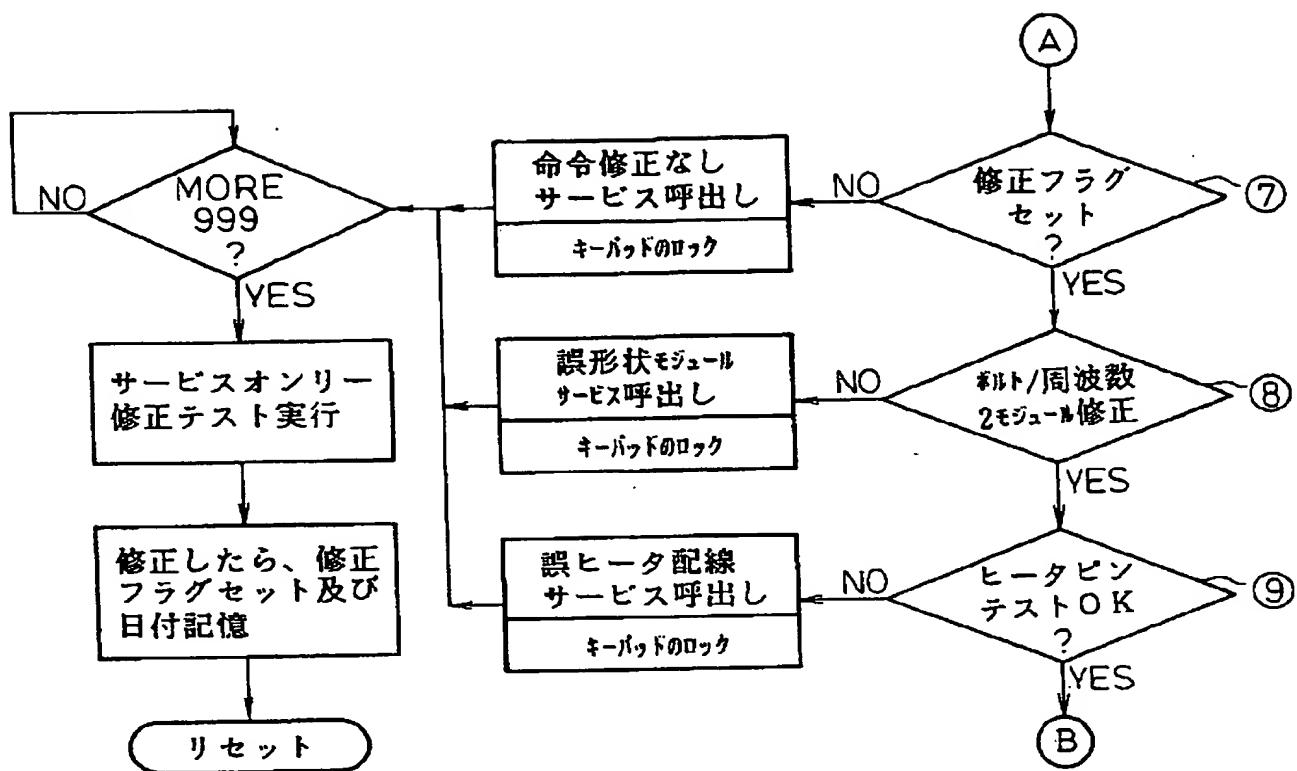
【図52】



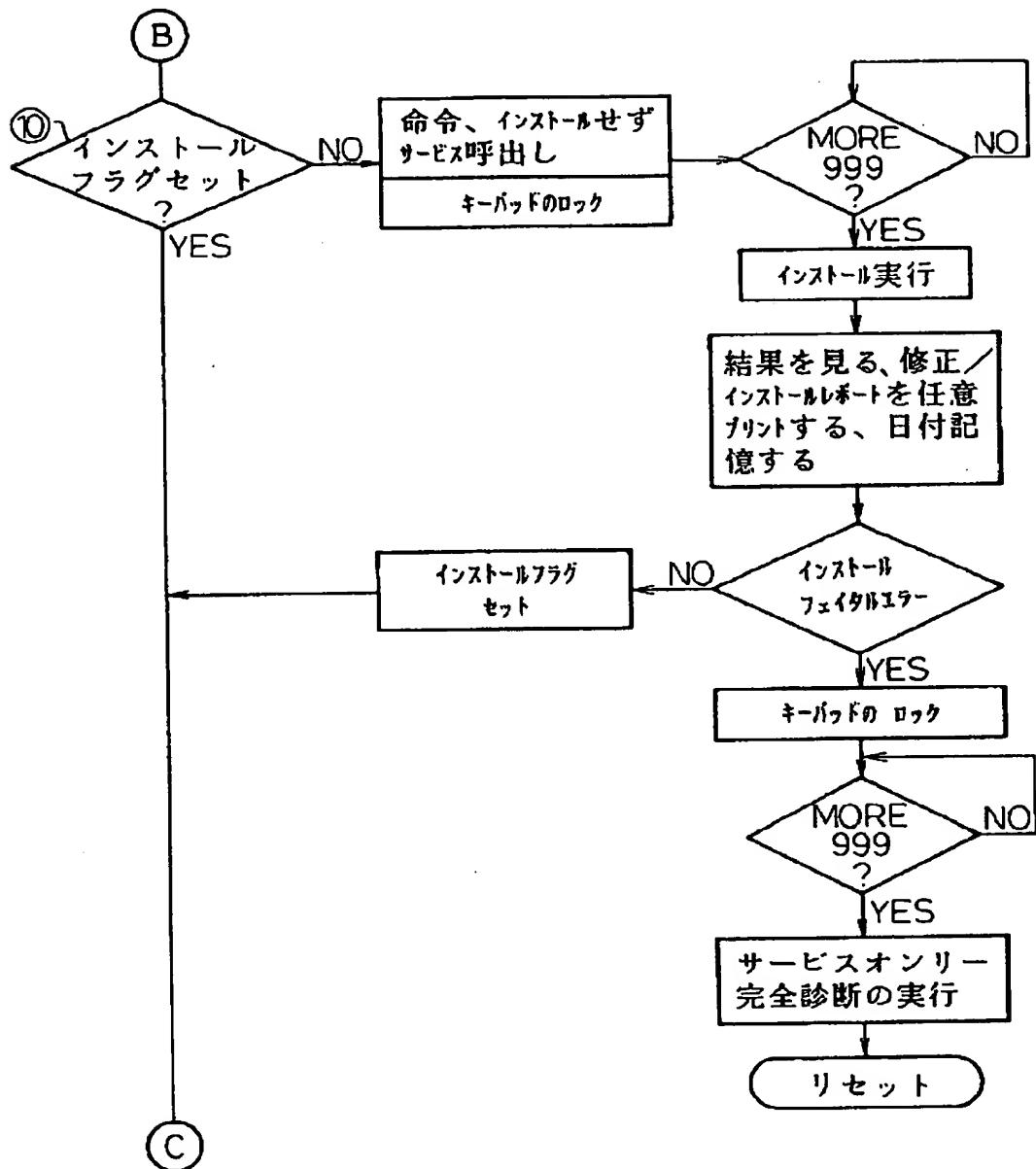
【図54】



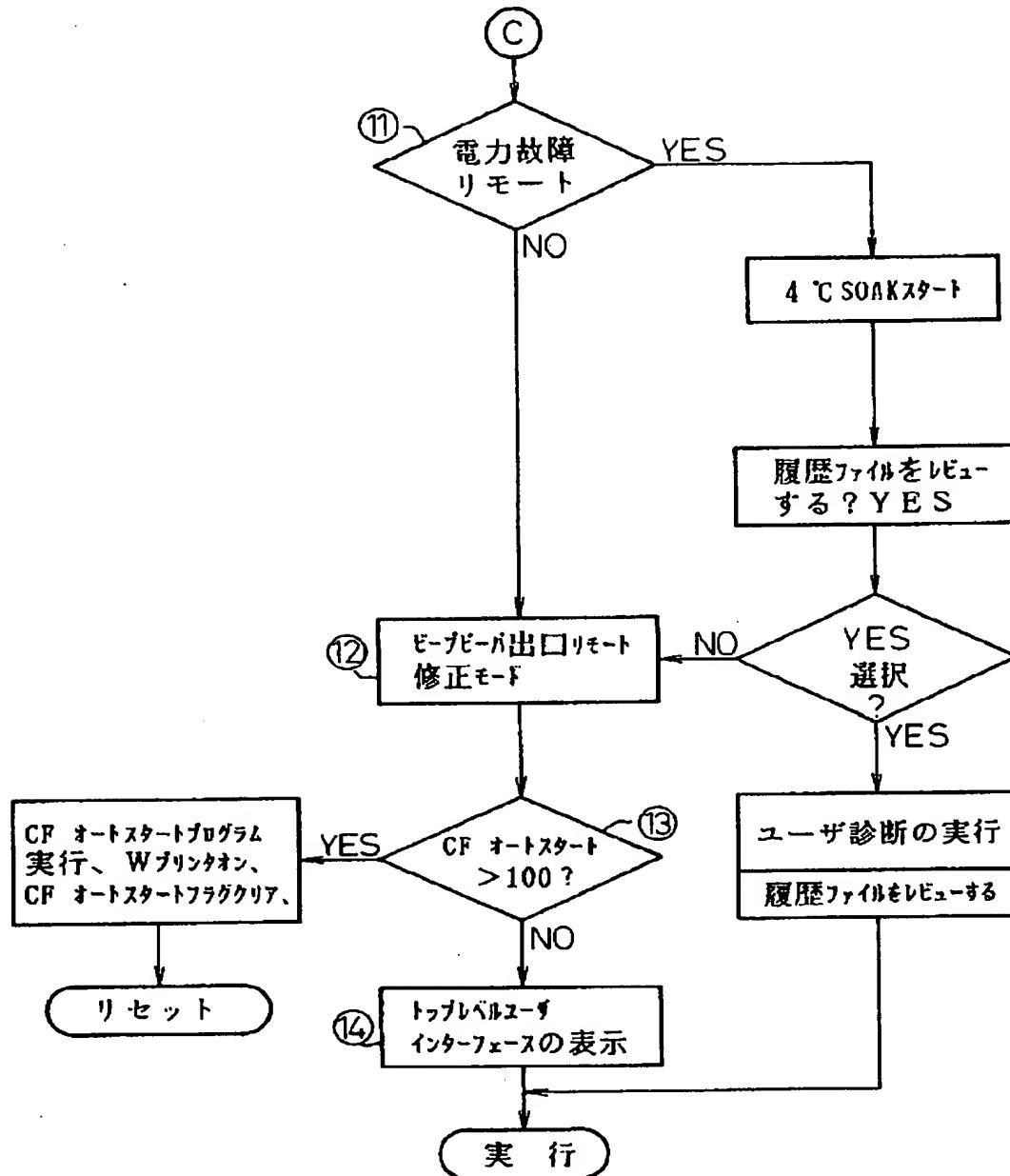
【図55】



【図56】



【図57】



【手続補正書】

【提出日】平成4年2月29日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正内容】

【書類名】 明細書

【発明の名称】 温度制御を用いたポリメラーゼ連鎖反応の自動実施装置

【特許請求の範囲】

【請求項1】 所定体積の液体試料混合物を収容した少くとも1つの試料管内で、ポリメラーゼ連鎖反応を制御下において自動的に行わせる装置であって、

a) 前記少くとも1つの試料管用の少くとも1つのウェルを有する試料ブロックと、

b) 演算装置と

c) 前記試料ブロックの温度を変化させるために前記演算装置によって制御される加熱及び冷却手段と、

d) 前記試料ブロックに熱的に接続されて、前記演算装置に前記試料ブロック温度を常時入力するブロック温度センサとを備え、

前記演算装置は前記液体試料混合物の温度を、前記試料ブロックの温度の時間変化についての関数として決定する手段を備えた装置。

【請求項2】 前記演算装置は、前記試料管と前記試料混合物の前記体積に対応する第一の熱的時定数に関連した1またはそれ以上の数値を格納する手段と、前記ブロック温度センサに対応する第二の熱的時定数の格納手段とを備えた請求項1の装置。

【請求項3】 前記試料温度を前記試料ブロックの温度の時間変化についての関数として決定する前記手段は、前記試料温度を前記第一と第二の熱的時定数の関数として決定する手段を含む請求項2の装置。

【請求項4】 前記演算装置は今回のサンプリング区間の現在時刻nにおける前記試料温度を次の式により決定する請求項3の装置。

$$T_{sample} = T_{sample-1} + (T_B - T_{sample-1}) * \frac{t}{interval / tau}$$

ここで T_{sample} は時刻nにおける試料温度、

$T_{sample-1}$ は時刻n-1における前回のサンプリング区間の試料温度

T_B は時刻nにおけるブロック温度

$t_{interval}$ はサンプリング区間の時間間隔を秒で表したもの、

tau は前記第一の熱的時定数から前記第二の熱的時定数を引いたものである。

【請求項5】 前記第一の熱的時定数は約5秒から14秒の範囲である請求項4の装置。

【請求項6】 保持時間と温度との関係を規定するための、ユーザにより設定される設定点を入力する入力装置を更に備え、前記演算装置は前記加熱及び冷却手段を、前記ユーザにより設定された設定点と前記試料温度との関数として制御する請求項5の装置。

【請求項7】 前記設定点温度は目標試料温度である請求項6の装置。

【請求項8】 保持時間と温度との関係を規定するための、ユーザにより設定される設定点を入力する入力装置を更に備え、前記演算装置は前記加熱及び冷却手段を、前記ユーザにより設定された設定点と前記試料温度との関数として制御する請求項1の装置。

【請求項9】 前記試料ブロックは、前記試料管を保持するための試料ウェル列を上面に備えた中央領域と、試料ブロックの両側の、大気に熱的な接触を保っている終端縁を含む終端縁領域と、試料ブロックの両側の、2つのマニホールド縁を含むマニホールド領域とを備え、前記マニホールド縁はマニホールドに熱的に接続されている請求項7の装置。

【請求項10】 前記加熱手段は、前記中央領域に熱的に接続された中央加熱ゾーンと、前記終端縁領域に熱的に接続された縁部加熱ゾーンと、前記マニホールド領域に熱的に接続されたマニホールド加熱ゾーンとを有するヒータである請求項9の装置。

【請求項11】 前記演算装置は前記加熱ゾーンに今回のサンプリング区間において加えるエネルギーを以下の方法で決定する請求項10の装置。

a) 前記ブロックに今回のサンプリング区間に付与する、エネルギー損失を考慮しない合計エネルギー量を表す理論上の第二のエネルギー値を決定し、

b) 前記第二のエネルギー値を、今回のサンプリング区間にそれぞれの前記加熱ゾーンに付与する理論エネルギー値に分け、

c) 今回のサンプリング区間ににおけるそれぞれの前記領域のエネルギー損失を決定し、

d) 今回のサンプリング区間ににおける前記それぞれの加熱ゾーンに付与するエネルギー値を前記それぞれの領域のエネルギー損失を考慮して決定する。

【請求項12】 前記ユーザにより設定される設定点の一つは所定の変化速度で前記試料温度を上昇させたときの変化後の目標試料温度であり、前記演算装置は、前記加熱ゾーンの全部に付与する前記理論上の第二のエネルギーを決定する手段であって以下のものを含む手段を備えた請求項11の装置。

a) 前記所定の変化速度を得るために全加熱ゾーンに付与する第四のエネルギー値を決定する手段、

b) 今回のサンプリング区間ににおける試料ブロックの前記温度を前記第四のエネルギー値の関数として決定する手段、

c) 今回のサンプリング区間ににおける前記試料温度を決定する手段、

d) 変化後の目標試料温度、前回のサンプリング区間ににおける試料温度との差のうち、今回のサンプリング区間に内に上昇させるべき温度増加分を決定する手段、及び、

e) 今回のサンプリング区間に前記温度増加分だけ試料温度を上昇させるための前記理論上の第二のエネルギー値を決定する手段。

【請求項13】 附加的に、前記試料ブロックに加えられる一定量のバイアス冷却を有し、前記演算装置は、所望の変化率を得るための全加熱ゾーンへの合計の第四のエネルギーを次の式により決定する請求項12の装置；

$$Power = CP / ramp rate + bias$$

ここで、Powerは所望の変化率を得るために全加熱ゾーンへ付与される合計エネルギー、

CPは前記ブロックの熱的質量、

biasは前記バイアス冷却の冷却エネルギー、

ramp rateは昇温後の目標試料温度と昇温開始時の試料温度との差を所望の変化率で割った値、である。

【請求項14】 前記演算装置は今回のサンプリング区

間における前記試料ブロックの前記温度を次の式により決定する請求項 1 2 又は 1 3 の装置：

$$T_{Bn} = T_{Bn-1} + Power * (t_{interval} / CP)$$

ここで T_{Bn-1} は時刻 $n - 1$ におけるブロック温度

$t_{interval}$ はサンプリング区間の時間間隔を秒で表したもの

CP は前記ブロックの熱的質量

Power は前記第四のエネルギーである。

【請求項 1 5】 前記演算装置は今回のサンプリング区間に上昇させるべき前記温度增加分を得るための前記理論的な第二のエネルギーを次の式により決定する請求項 1 2 から 1 4 のいずれか 1 項の装置：

$$Pwr = CP / t_{interval} * ((SP - T_{sumn-1}) * F * tau / t_{interval} + T_{sumn-1} - T_{Bn})$$

ここで Pwr は今回のサンプリング区間に上昇させるべき前記温度增加分を得るための前記理論的な第二のエネルギー値、

CP は前記ブロックの熱的質量、

SP は前記変化後の目標試料温度、

F は前記変化後の目標試料温度と前記試料温度との差のうち、今回の計測区間に上昇させるべき温度增加分である。

【請求項 1 6】 前記 $t_{interval}$ の値は約 0. 2 である請求項 1 2 から 1 5 のいずれか 1 項の装置。

【請求項 1 7】 前記液体試料混合物の前記所定体積は約 20 から 100 マイクロリットルの範囲である請求項 1 の装置。

【請求項 1 8】 前記演算装置は、残存している誤差を排除するために、前回のサンプリング区間に於ける前記試料温度が前記変化後の目標試料温度に対して、所定の積分帶域内にある場合には、今回のサンプリング区間に於いて上昇させるべき前記温度増分の値を修正する請求項 1 2 から 1 5 のいずれか 1 項の装置。

【請求項 1 9】 前記積分帶域は約 ± 0. 5 °C である請求項 1 8 の装置。

【請求項 2 0】 前記演算装置は、前回のサンプリング区間に於いて物理的制約のために供給されなかつたエネルギー量を補償するために、次の式で表されるエネルギー補正項を加えることによって、今回のサンプリング区間に上昇させるべき温度增加分を得る前記理論上の第二のエネルギー値を修正する請求項 1 2 から 1 9 のいずれか 1 項の装置；

$$\begin{aligned} int sum_n &= int sum_{n-1} + (SP - T_{sumn-1}), \\ pwr_adj &= ki * int sum_n, \end{aligned}$$

ここで pwr_adj は前記エネルギー補正項、

$int sum_n$ は時刻 n における累積積分項の値、

$int sum_{n-1}$ は時刻 $n - 1$ における累積積分項の値、

SP は前記変化後の目標試料温度、

T_{sumn-1} は時刻 $n - 1$ における試料温度、

ki は積分ゲイン定数である

【請求項 2 1】 前記積分ゲイン定数は約 512 である請求項 2 0 の装置。

【請求項 2 2】 前記演算装置は前記理論上の第二のエネルギー値を前記それぞれの加熱ゾーンに各ゾーン面積に比例して配分する請求項 1 1 の装置。

【請求項 2 3】 前記演算装置は、

- a) 前記試料ブロックの発泡体の裏張りに今回のサンプリング区間に奪われるエネルギーを決定し、
- b) 前記マニホールドに今回のサンプリング区間に奪われるエネルギーを決定し、
- c) 前記終端縁領域に今回のサンプリング区間に奪われるエネルギーを決定することによりエネルギー損失を決定する請求項 1 1 の装置。

【請求項 2 4】 前記演算装置は、

- a) 今回のサンプリング区間に於ける前記発泡体の裏張りの温度を決定し、
- b) 今回のサンプリング区間に於けるブロック温度を決定し、
- c) 前記発泡体の裏張りに奪われるエネルギーを、前記今回のサンプリング区間に於ける発泡体の裏張りの温度と、前記今回のサンプリング区間に於けるブロック温度と前記発泡体の裏張りの熱的時定数との関数として決定する、請求項 2 3 の装置。

【請求項 2 5】 前記演算装置は、今回のサンプリング区間に於ける発泡体の温度を次の式により決定する請求項 2 4 の装置。

$$T_{fomn} = T_{fomn-1} + (T_{Bn} - T_{fomn-1}) * t_{interval} / tau_2$$

ここで T_{fomn} は時刻 n における発泡体温度、

T_{fomn-1} は時刻 $n - 1$ における発泡体温度、

tau_2 は前記発泡体の裏張りの時定数である。

【請求項 2 6】 前記 tau_2 は約 30 秒、 $t_{interval}$ は約 0. 2 である請求項 2 5 の装置。

【請求項 2 7】 前記演算装置は、今回のサンプリング区間に於ける前記試料ブロックの温度を次の式により決定する請求項 2 4 から 2 6 のいずれか 1 項の装置。

$$T_{Bn} = T_{Bn-1} + power * (t_{interval} / CP)$$

ここで T_{Bn-1} は時刻 $n - 1$ におけるブロックの温度、

$t_{interval}$ はサンプリング区間の時間間隔、

CP は前記ブロックの熱的質量、

power は前記所定の温度変化速度を得るための全部の加熱ゾーンに加えられる第四の合計エネルギーである。

【請求項 2 8】 前記演算装置が前記発泡体裏張りに奪われるエネルギーを、

$$fom-pwr = C * (T_{Bn} - T_{fomn})$$

但し、 $fom-pwr$ は時刻 n における前記発泡体裏張りに奪われる前記エネルギー損失、 T_{fomn} は時間 n における発泡体の温度に等しく、 C は発泡体裏張りの熱的

質量に等しい。

による前記発泡体裏張りの前記温度の関数として決定する請求項24から27のうちのいずれか1項の装置。

【請求項29】 前記試料ブロックに常時加えられるバイアス冷却剤を分配する手段をさらに具備し、前記演算装置が、前記今回のサンプリング区間での前記マニホールドに対するエネルギー損失を、

$$\text{manifold loss} = K_A (T_{Bn} - T_{An}) + K_C (T_{Bn} - T_{Cn}) + TM (dT/dt)$$

但し、manifold-lossは前記今回のサンプリング区間での前記マニホールドに奪われる前記エネルギー損失に等しく、KAは終端縁領域一対一周囲コンダクタンス定数に等しく、TAnは時刻nにおける周囲温度に等しく、TCnは時刻nにおける前記バイアス冷却剤の温度に等しく、KCは試料ブロック一対一冷却剤コンダクタンス定数に等しく、TMは前記マニホールドの熱的質量に等しく、dT/dtは前記予め選択された変化速度に等しい。

によって決定する請求項23から28のうちのいずれか1項の装置。

【請求項30】 自動化されたポリメラーゼ連鎖反応のための前記装置が、包囲された大気を画成する前記標本ブロックのための外被を含み、前記演算装置が前記今回のサンプリング区間における周囲に奪われるエネルギー損失を、

$$\text{ambient loss} = K2A (T_{Bn} - T_{An}) + K2C (T_{Bn} - T_{Cn}) + TM2 (dT/dt)$$

但し、ambient lossは前記今回のサンプリング区間における前記周囲に奪われる前記エネルギー損失であり、K2Aが終端縁領域一対一周囲コンダクタンス定数に等しく、TAnが時刻nでの環境温度に等しく、K2Cが終端縁領域一対一冷却剤定数に等しく、TCnが時刻nでの冷却剤温度に等しく、TM2が前記包囲された周囲大気の熱的質量に等しく、dT/dtが前記予め選択された変化速度に等しい。

によって決定する請求項23から29のうちのいずれか1項に記載の装置。

【請求項31】 前記演算装置が、前記今回のサンプリング区間における前記各個々の領域に加えられる前記実際のエネルギーを、

$$\text{central pwr} = \text{pwr} * \text{cper}$$

$$\text{manifold pwr} = \text{pwr} * \text{mper} + \text{manifold loss}$$

$$\text{edge pwr} = * \text{eper} + \text{ambient loss}$$

但し、pwrは前記理論的エネルギーに等しく、manifold lossは前記今回のサンプリング区間における前記マニホールドに対するエネルギー損失に等しく、ambient lossは前記今回のサンプリング区間ににおける前記周囲に対する前記終端の縁領域のエネルギー

損失に等しく、central pwrは前記今回のサンプリング区間における前記中央加熱領域に加えられるエネルギーに等しく、manifold pwrは今回のサンプリング区間における前記マニホールド加熱領域に加えられるエネルギーに等しく、edge pwrは前記今回のサンプリング区間における前記終端縁加熱領域に加えられるエネルギーに等しく、cperは前記中央領域の試料ブロック区域の部分に等しく、mperは前記マニホールド領域の試料ブロック区域の部分に等しく、eperは前記終端縁領域の試料ブロック区域の部分に等しい。

によって決定する請求項11に記載の装置。

【請求項32】 cperが約0.66に等しく、mperが約0.20に等しく、eperが約0.14に等しい請求項31に記載の装置。

【請求項33】 前記試料ブロックが、多数の横断ランプ冷却通路と交互する多数の横断バイアス冷却通路を包含し、前記バイアス及びランプ冷却通路が前記上部表面に平行であり、前記装置がさらに、冷却された冷却剤を前記バイアス冷却通路を通って常時送り出す手段と、冷却された冷却剤を前記ランプ冷却通路を通って選択的に送り出すための前記演算装置によって制御される弁手段とを具備している請求項9に記載の装置。

【請求項34】 前記演算装置が前記ブロックに加えられる理論上の冷却エネルギーを決定する請求項33に記載の装置。

【請求項35】 前記演算装置が、

a. 所望の変化速度を得るための前記ブロックに対する全体の第5のエネルギーを決定する手段、

b. 前記今回のサンプリング区間における試料ブロックの前記温度を前記第5のエネルギーの関数として決定する手段、

c. 前記今回のサンプリング区間における前記試料温度を決定する手段、

d. 温度降下した後の目標試料温度と前記今回のサンプリング区間において形成される前記直前のサンプリング区間における試料温度との間の差の一部分を決定する手段、

e. 前記今回のサンプリング区間における前記一部分を構成するための前記理論的冷却動力を決定する手段、とを含む、前記冷却動力を決定する手段を有している請求項34に記載の装置。

【請求項36】 前記試料ブロックに常時加えられるバイアス冷却作用をさらに含み、前記演算装置が、所望の変化速度を得るための全加熱領域に対する全体の第4のエネルギーを、

$$\text{power} = CP / \text{ramp rate} + bias$$

但し、powerは所望変化速度を得るための前記ブロックに対する前記全エネルギーであり、CPは前記ブロックの熱的質量に等しく、biasは前記バイアス冷却作

用の冷却エネルギーであり、ramp rateは変化後の目標試料温度と変化開始時における標本温度との間の差を所定の変化率で割ったものである。によって決定する手段を含んでいる請求項35に記載の装置。

【請求項37】前記演算装置が、前記今回のサンプリング区間における前記部分を構成するための前記理論的冷却動力を、

$$CP / t_{interval} * [(SP - T_{sample-1}) * F \\ * tau / t_{interval} + T_{sample-1} - TB_n]$$

但し、pwrは前記今回のサンプリング区間における前記部分を構成するため加えられる前記理論的冷却動力に等しく、CPは前記ブロックの熱的質量に等しく、SPは変化後の前記目標試料温度に等しく、Fは傾斜後の前記目標温度と前記標本温度との間の差のうち、今回のサンプリング区間内で変化させるべき温度分である。の関数として決定する請求項36に記載の装置。

【請求項38】前記計算装置が、前記今回のサンプリング区間における前記マニホールドに奪われるエネルギー損失を、

$$manifold_loss = KA (TB_n - TA_n) + KC (TB_n - TC_n) + TM (dT / dt)$$

但し、manifold lossは前記今回のサンプリング区間における前記マニホールドに対する前記エネルギー損失に等しく、KAは端縁領域一対一周囲コンダクタンス定数に等しく、TA_nは時間nでの周囲温度に等しく、TC_nは時間nでの前記バイアス冷却剤の温度に等しく、KCは試料ブロッター対一冷却剤コンダクタンス定数に等しく、TMは前記マニホールドの熱的質量に等しく、dT / dtは前記予め選択された変化速度に等しい。

により決定する請求項37に記載の装置。

【請求項39】自動化されたポリメラーゼ連鎖反応を行う前記装置が、包囲された周囲大気を画成する前記本ブロックのための外被を含み、前記計算装置が、前記流動標本間隔における周囲に対するエネルギー損失を、

$$ambient_loss = K2A (TB_n - TA_n) + K2C (TB_n - TC_n) + TM2 (dT / dt)$$

但し、ambient lossは前記今回のサンプリング区間における前記周囲に対する前記エネルギー損失であり、K2Aは終端縁領域一対一周囲コンダクタンス定数に等しく、TA_nは時刻nでの周囲温度に等しく、TC_nは時刻nでの冷却剤温度に等しく、TM2は前記包囲された周囲大気の熱的質量に等しく、dT / dtは前記予め選択された変化速度に等しい。

によって決定する請求項38に記載の装置。

【請求項40】前記演算装置が、前記今回のサンプリング区間における前記ブロックを冷却するための前記通路を開放する手段を含み、

- a. 前記温度変化が下方に向うことを決定する手段と、
- b. 前記理論的冷却エネルギーから前記マニホールドと前記

周囲とに対するエネルギー損失の値を減じることにより、中間のエネルギー値を決定する手段と、

- c. 冷却ブレークポイントを前記ブロック温度と前記冷却剤の温度との関数として決定する手段と、
- d. 前記ランプ冷却通路が前記中間動力と前記冷却ブレークポイントとの関数として開放されたかどうかを決定する手段、

とを具備している請求項39に記載の装置。

【請求項41】前記冷却ブレークポイントが、前記今回のサンプリング区間における前記ブロック温度と前記今回のサンプリング区間における前記冷却流体の前記温度との間の差の関数である請求項40に記載の装置。

【請求項42】前記ランプ冷却通路が、前記中間エネルギーが前記冷却ブレークポイントより小さいときに開放される請求項41に記載の装置。

【請求項43】前記ユーザの画定した設定点の関数としての前記加熱及び冷却手段の制御が、プロファイル線として前記プロファイルを描く請求項7に記載の装置。

【請求項44】前記計算装置が、ユーザが前記プロファイル線を求めることができるようとする手段を具備している請求項43に記載の装置。

【請求項45】前記入力装置がさらに、前記各プロファイルのためのユーザが画定したサイクルカウントを受け取る手段を具備し、前記サイクルカウントが、前記プロファイルが求められた時に描く回数の数を構成する請求項44に記載の装置。

【請求項46】前記演算装置がさらに1つのプロトコルを形成するため多数のプロファイルを任意の順序で連結する手段を具備し、前記プロトコルが、前記描かれるプロファイルの順序を画定し、描かれるプロファイルの前記順序の結果がプロトコルの連続として前記プロトコルを連続して構成する請求項45に記載の装置。

【請求項47】前記演算装置がさらに、单一のプロトコルにおいて单一のプロファイルを複数回連結する手段を具備している請求項46に記載の装置。

【請求項48】前記演算装置がさらに複数のプロトコルを蓄積する手段を具備している請求項46又は47に記載の装置。

【請求項49】前記演算装置が、複数の前記プロトコルにおける任意の前記プロファイルを包含する手段を具備している請求項46から48のうちの1項に記載の装置。

【請求項50】前記演算装置が、任意のプロトコルに含まれたプロファイルが消されたり重ね書きされたりしないよう保護する手段を具備している請求項46から49のうちの1項に記載の装置。

【請求項51】前記装置を作動するための電力が前記プロファイルの前記実行中消失したこと決定する手段をさらに具備している請求項43に記載の装置。

【請求項52】前記電力が回復された時前記電力の停

電の長さを報告する手段をさらに具備している請求項5
1に記載の装置。

【請求項53】 前記電力の回復時に浸漬を自動的に開始する手段をさらに具備し、前記浸漬が、前記試料を保全する機会を最大にするよう選択された温度で行われる請求項51又は52に記載の装置。

【請求項54】 前記試料を保全するための前記温度が4°Cである請求項53に記載の装置。

【請求項55】 前記サイクルカウントにおけるサイクルからサイクルへの任意の又は全ての設定点の保持時間を自動的に増大させる手段をさらに含んでいる請求項45から54のうちの1項に記載の装置。

【請求項56】 サイクルからサイクルへの任意の又は全ての設定点の保持時間を自動的に増大させる前記手段の作動が、前記入力装置を介するユーザのレベルオプションとして選択可能である請求項55に記載の装置。

【請求項57】 サイクルからサイクルへの任意の又は全ての設定点の保持時間における前記自動的な増加が前記入力装置を介する最初のユーザの画定した値の入力によるものである請求項55又は56に記載の装置。

【請求項58】 サイクル間に亘る保持時間の前記自動増加は、前記第1ユーザ規定値に基づいた線形である請求項57記載の装置。

【請求項59】 サイクル間に亘る保持時間の前記自動増加は、前記第1ユーザ規定値に基づいた幾何形状である請求項57記載の装置。

【請求項60】 前記サイクルカウントにおいてサイクル間に亘る全設定点の保持時間を自動的に減少させる手段をさらに備えた請求項45～59のいずれか1つに記載の装置。

【請求項61】 サイクル間に亘る全設定点の保持時間を自動的に減少させる前記手段の励起は、前記入力装置を介したユーザ水準の選択として選定可能である請求項60記載の装置。

【請求項62】 サイクル間に亘る全設定点の保持時間の前記自動減少は、前記入力装置を介して入力される第2ユーザ規定値によるものである請求項60又は61記載の装置。

【請求項63】 サイクル間に亘る保持時間の前記自動減少は、前記第2ユーザ規定値に基づいた線形である請求項62記載の装置。

【請求項64】 サイクル間に亘る保持時間の前記自動減少は、前記第2ユーザ規定値に基づいた幾何形状である請求項62記載の装置。

【請求項65】 前記サイクルカウントにおいてサイクル間に亘る全設定点の設定点温度を自動的に増加させる手段をさらに備えた請求項45～64のいずれか1つに記載の装置。

【請求項66】 サイクル間に亘る全設定点の設定点温度を自動的に増加させる前記手段の励起は、前記入力装

置を介したユーザ水準の選択として選定可能である請求項65記載の装置。

【請求項67】 サイクル間に亘る全設定点の設定点温度の前記自動増加は、前記入力装置を介して入力される第3ユーザ規定値によるものである請求項65又は66記載の装置。

【請求項68】 サイクル間に亘る設定点温度の前記自動増加は、前記第3ユーザ規定値に基づいた線形である請求項67記載の装置。

【請求項69】 サイクル間に亘る設定点温度の前記自動増加は、前記第3ユーザ規定値に基づいた幾何形状である請求項67記載の装置。

【請求項70】 前記サイクルカウントにおいてサイクル間に亘る全設定点の設定点温度を自動的に減少させる手段をさらに備えた請求項45～69のいずれか1つに記載の装置。

【請求項71】 サイクル間に亘る全設定点の設定点温度を自動的に減少させる前記手段の励起は、前記入力装置を介したユーザ水準の選択として選定可能である請求項70記載の装置。

【請求項72】 サイクル間に亘る全設定点の設定点温度の前記自動減少は、前記入力装置を介して入力される第4ユーザ規定値によるものである請求項70又は71記載の装置。

【請求項73】 サイクル間に亘る設定点温度の前記自動減少は、前記第4ユーザ規定値に基づいた線形である請求項72記載の装置。

【請求項74】 サイクル間に亘る設定点温度の前記自動減少は、前記第4ユーザ規定値に基づいた幾何形状である請求項72記載の装置。

【請求項75】 ユーザ規定時間に対する実行を自動的に停止するためのプログラミングされた停止選択手段をさらに具備した請求項43～74のいずれか1つに記載の装置。

【請求項76】 前記停止選択手段は、全設定点が完了した後、全サイクルの間、及びプロトコルにおける全プロファイルを実行した後に、前記実行を停止する手段を具備する請求項75記載の装置。

【請求項77】 前記試料温度が前記設定点温度の温度範囲内にあるときに前記設定点保持時間が始まるよう、ユーザが前記入力装置を介して該温度範囲を規定することを可能にする手段をさらに具備した請求項7～76のいずれか1つに記載の装置。

【請求項78】 管形式及び反応量を受取る入力装置をさらに具備し、前記コンピュータが、前記反応管に対する前記熱時間定数を前記管形式及び前記反応量の関数として決定する請求項2記載の装置。

【請求項79】 前記加熱手段の診断チェックを遂行する手段をさらに具備した請求項10記載の装置。

【請求項80】 前記チェックは、1回又は複数回の、

ヒータ音テスト、ブロック熱容量テスト、傾斜冷却伝導テスト、センサ遅れテストを含む請求項7 9記載の装置。

【請求項8 1】 前記冷却手段の診断チェックを遂行する手段をさらに備えた請求項3 3記載の装置。

【請求項8 2】 前記チェックは、1回又は複数回の、制御冷却伝導テスト、ブロック熱容量テスト、冷却装置テスト、傾斜冷却伝導テスト、センサ遅れテスト、冷却剤容量テストを含む請求項8 1記載の装置。

【請求項8 3】 ユーザの要求に応じて及び／又はシステムの開始時に自動的に、ハードウェア診断を遂行する手段をさらに備えた請求項1記載の装置。

【請求項8 4】 前記ハードウェア診断は、プログラマブルな周辺インターフェース装置、バッテリーRAM装置、バッテリーRAM検査合計、EPROM装置、プログラマブルなインターフェースタイマ装置、クロック／カレンダ装置、プログラマブルな割込み制御装置、アナログ／デジタル変換部、RS-232部、ディスプレイ部、キーボード、ビーパ、傾斜冷却値、EPROMミスマッチ、ファームウェアバージョンレベル、バッテリーRAM検査合計及び初期化、自動開始プログラムフラグ、クリア較正フラグ、被熱カバーヒータ及び制御回路、エッジヒータ及び制御回路、多岐管ヒータ及び制御回路、中央ヒータ及び制御回路、試料ブロック熱遮断、被熱カバー熱遮断、の各々の1回又は複数回のテストを含む請求項5 5記載の装置。

【請求項8 5】 アナログ回路におけるドリフトを示すための温度センサ読取り調整手段をさらに備えた請求項4 3記載の装置。

【請求項8 6】 アナログ回路におけるドリフトを示すための前記温度センサ読取り調整手段は、a) 制御状態下での1回又は複数回のテスト電圧の計測、

b) 電子ドリフトを計測するための各実行の開始時における前記電圧の読取り、によって前記ドリフトを決定する請求項8 5記載の装置。

【請求項8 7】 前記コンピュータは、実行中に、プロファイルの実行での残時間、及び／又は実行プロトコルで実行すべき全ての残プロファイル、の概算量を表示する手段を具備する請求項4 6記載の装置。

【請求項8 8】 前記コンピュータは、実行中に全ての所与の時間における試料温度を表示する手段を具備する請求項4 3～5 0記載の装置。

【請求項8 9】 所与の設定点に対し、前記設定点保持時間の終わりでの前記試料温度と、前記設定点の前記設定点試料温度との間の第1の差を決定する手段をさらに備えた請求項7記載の装置。

【請求項9 0】 前記入力装置は、ユーザ規定温度差を受取る手段をさらに備える請求項8 9記載の装置。

【請求項9 1】 前記コンピュータは、前記ユーザ規定温度差が前記第1の差より大きい場合にエラーを報告す

る手段をさらに具備する請求項9 0記載の装置。

【請求項9 2】 全てのアイドル状態の間に本装置が帰還する温度を形成する手段をさらに具備した請求項7記載の装置。

【請求項9 3】 前記設定点試料温度が所定時間内に到達したことをチェックする手段をさらに具備した請求項7記載の装置。

【請求項9 4】 前記自動修正された設定点試料温度が100°Cを越えていないこと及び／又は0°C以下になっていないことをチェックする手段をさらに具備した請求項6 5～7 4のいずれか1つに記載の装置。

【請求項9 5】 前記自動修正された設定点保持時間が負でないことをチェックする手段をさらに具備した請求項5 5～7 4のいずれか1つに記載の装置。

【請求項9 6】 前記ブロックセンサを継続的に監視し、かつ、前記センサ読取りが所定度数及び所定時数によって前記ブロックに対する最高所望温度を越える場合に、放棄手順を励起する手段をさらに具備した請求項1記載の装置。

【請求項9 7】 前記放棄手順は、1回又は複数回の、実行プロファイルの放棄、履歴ファイル内のエラーのフラグ付け、ユーザへの警告メッセージの表示、前記ヒータの無力化を含む請求項9 6記載の装置。

【請求項9 8】 前記システムに記憶された情報を印刷する手段をさらに具備した請求項4 3～5 0のいずれか1つに記載の装置。

【請求項9 9】 前記情報は、プロファイルの内容、プロトコルの内容、生成されたプロファイルの記載、生成されたプロトコルの記載、構成パラメタ、システム較正パラメタの、少なくとも1つを含む請求項9 8記載の装置。

【請求項1 0 0】 利用可能な全てのユーザインターフェイス機能を間接的に遂行する能力をさらに備えた請求項1～9 9のいずれか1つに記載の装置。

【請求項1 0 1】 前記コンピュータは、書込まれたマニュアルのユーザ依存を低減するためにユーザインターフェイスによって駆動されるメニューを表示する手段を備える請求項1～9 9のいずれか1つに記載の装置。

【請求項1 0 2】 前記コンピュータは、保全チェック及びエラー分析のための前実行の明細を包含する迅速な該前実行の履歴ファイルを維持する請求項4 3～5 0のいずれか1つに記載の装置。

【請求項1 0 3】 既知量の液体試料混合物を収容した少なくとも1つの試料管内におけるポリメラーゼ連鎖反応の、コンピュータ、前記少なくとも1つの試料管用の少なくとも1つのウェルを備えた試料ブロック、該試料ブロックへ熱的に連結されるブロック温度センサ、及び前記試料ブロックの温度を変化させるために前記コンピュータによって制御される加熱及び冷却手段、を備えたコンピュータ制御式熱循環装置による自動遂行を、コン

ピュータ制御するための方法であって、

前記コンピュータによる、

a) 所定の時刻における前記試料ブロックの温度を読むステップ、

b) 所定時間に亘る前記試料ブロックの温度の関数として前記液体試料混合物の温度を決定するステップ、及び、

c) 前記液体試料混合物の温度の関数として前記加熱及び冷却手段を制御するステップ、の各ステップを含む方法。

【請求項104】 前記液体試料の温度を決定する前記ステップが以下の各ステップを具備する請求項103記載の方法。

(i) 前記少なくとも1つの試料管に対する第1の熱時間定数及び前記液体試料混合物の量を決定するステップ、

(ii) 前記ブロック温度センサに対する第2の熱時間定数を決定するステップ、及び、

(iii) 現在時刻nでの現在試料インターバルにおける試料温度を、式、 $T_{\text{temp}, n} = T_{\text{temp}, n-1} + (T_{B, n} - T_{\text{temp}, n-1}) * t_{\text{interval}} / \tau_0$ 、に従って決定するステップ。

ただし、 $T_{\text{temp}, n}$ は時刻nでの試料温度、 $T_{\text{temp}, n-1}$ は時刻n-1で発生した直前試料インターバルでの試料温度、 $T_{B, n}$ は時刻nでのブロック温度、 t_{interval} は各試料インターバル間の時間(秒)、 τ_0 は前記第1の熱時間定数から前記第2の熱時間定数を引いた差、をそれぞれ示す。

【請求項105】 請求項103の方法において、前記サンプルブロックは、前記少くとも一つのウエルを備えた中心部と、雰囲気と熱接触下にある端縁領域と、少くとも一つのマニホールドに熱的に連結されたマニホールド領域とを含み、前記加熱手段は前記各領域のためのゾーンを有し、更に、前記加熱手段を制御するための段階は、(iv) パワー損失を考慮しないで現在時刻nにおいて現在のサンプル区間で前記ブロックに印加すべき全パワーを代表する第2パワー理論値を決定する段階と、

(v) 第2パワー理論値を、前記加熱領域の各々に印加すべきパワー理論値に分割する段階と、

(vi) 現在のサンプル区間における前記領域によるパワー損失を決定する段階と、

(vii) 前記各ゾーンによるパワー損失を考慮した、現在のサンプル区間における前記ゾーンの各々のため第3パワー現実値を決定する段階、とから成ることを特徴とする方法。

【請求項106】 請求項105の方法において、前記の熱サイクルに加えてサンプルブロックに絶えず冷却を付与し、前記コンピュータ制御冷却手段は、前記サンプルブロックに冷却液体を選択的に送るための選択的操作可能なランプ冷却手段を具備し、更に、前記選択操作可

能冷却手段の制御段階は、

(viii) サンプルの温度ランプ方向が下向きであることを決定する段階と、

(ix) 前記冷却液体の温度を決定する段階と、

(x) パワー損失を考慮することなく現在のサンプル区間における前記ブロックに加える全冷却パワーを決定する段階と、

(xi) 前記少くとも一つのマニホールドに対する熱損失及び前記全冷却パワーから環境への熱パワー損失を差し引くことによって中間冷却パワーを決定する段階と、

(xii) ブロック温度と現在のサンプル区間での冷却流体の温度との差の関数としての冷却限界点を決定する段階と、

(xiii) 中間冷却パワーと冷却限界点との差の関数として前記ランプ冷却手段を選択的に作動する段階とから成る方法。

【請求項107】 ポリメラーゼ連鎖反応の自動遂行に適した熱サイクル装置であって、

(a) 主要上面と主要下面とを有した金属ブロックと、

(b) 前記主要上面内に形成される離間して配列されるサンプルウエルと、

(c) 温度が35°Cから100°Cである場合は外部熱が加わらない限りは少なくとも約0.1°C/秒の割合でブロックをして均一な冷却を行わしめるのに充分な割合でサンプルブロックに絶えず印加されるバイアス冷却と、

(d) 前記バイアス冷却より急速にブロックの温度を均等に高めるべくコンピュータシステムに応動するコンピュータ制御加熱手段とを具備し、熱サイクル装置は、サンプルウエルの配列を、コンピュータの制御の下で±約0.5°Cの公差帶内で35°Cから100°Cの範囲で一定にインジェクタするようにした熱サイクル装置。

【請求項108】 請求項107の熱サイクル装置において、前記サンプルウエル配列は複数列の離間サンプルウエルより成る矩形配列である装置。

【請求項109】 請求項108の熱サイクル装置において、前記配列は、産業標準のマイクロタイタプレート形式とコンパチブルな中心間サンプルウエル間隔を持つ8×12の矩形配列よりなる装置。

【請求項110】 請求項109の熱サイクル装置において、前記サンプルブロックは500から600ワット一秒/°Cのブロック熱容量を持っている装置。

【請求項111】 請求項108の熱サイクル装置において、前記サンプルブロックはブロックを通して前記上面と平行にかつウエル列と平行にかつウエル列から離間して多数横方向バイアス冷却チャンネルを具備し、かつ前記バイアス冷却は前記バイアス冷却チャンネルを通して冷却液体を圧送することにより付与される装置。

【請求項112】 請求項111の熱サイクル装置において、前記バイアス冷却チャンネルは絶縁されている装

置。

【請求項113】 請求項107の熱サイクル装置において、前記コンピュータ制御可能加熱手段はブロックのための多数の、独立制御可能な加熱ゾーンを具備し、ブロックの前記部分のための少くとも一つの第1のゾーンはサンプルウエルの配列と、該配列の外側のブロックの周辺部のための少くとも一つの第2のゾーンとを具備する装置。

【請求項114】 請求項113の熱サイクル装置において、コンピュータ制御可能加熱手段は前記主要面と熱接触下になる多数ゾーンヒータより成る装置。

【請求項115】 請求項107の熱サイクル装置において、前記サンプルブロックはその周囲に前記配列を具備するブロック部分に類似した熱特性を持つ防護バンドを備え、該防護バンドはバイアス冷却を受け、かつ制御可能に加熱される装置。

【請求項116】 請求項115の熱サイクル装置において、前記防護帶は前記配列の回りを実質的に延びて、上部面に形成される溝を具備し、前記配列を具備するブロック部と防護バンドとの間の熱伝導度を減少している装置。

【請求項117】 請求項115の熱サイクル装置において、前記コンピュータ制御可能加熱手段は、前記ブロックのための多数のコンピュータ制御式の加熱ゾーンと、サンプルウエルの配列を含むブロックの部分のための少くとも一つの第1ゾーンと、防護バンドのための少くとも一つの第2ゾーンとを具備する装置。

【請求項118】 請求項117の熱サイクル装置において、前記コンピュータ制御可能加熱手段は前記主要底面と熱接触下にある多数ゾーンフィルムヒータよりなる装置。

【請求項119】 請求項107の熱サイクル装置において、100°Cから少くとも約4°C毎秒の速度で、また40°Cから少くとも2°C毎秒の温度で前記ブロックの温度を下降することができるコンピュータ制御ランプ冷却手段を更に具備する装置。

【請求項120】 請求項119の熱サイクル装置において、前記配列は列状に離間したサンプルウエルよりも矩形配列をなし、かつ前記サンプルブロックは前記多数横方向ランプ冷却チャンネルと交互に配置される多数の横方向バイアス冷却チャンネルとを具備し、更に、前記バイアス冷却及びランプ冷却の付与は前記ランプ冷却チャンネル及びバイアス冷却チャンネルを通して冷却液体を、圧送することによって行われる装置。

【請求項121】 請求項120の熱サイクル装置において、冷却液体を継続するランプ冷却チャンネルの対向端に輸送する手段を更に具備する装置。

【請求項122】 請求項119の熱サイクル装置において、コンピュータ制御可能加熱手段はランプ加熱することができる装置。

【請求項123】 請求項122の熱サイクル装置において、前記制御可能加熱手段はブロックのための多数の独立に制御可能な加熱ゾーンと、サンプルウエル配列を含むブロックの部分のための少くとも一つのゾーンと、配列の外側のブロックの部分のための少くとも一つの第2のゾーンとを具備する装置。

【請求項124】 請求項123の熱サイクル装置において、前記コンピュータ制御可能加熱手段は前記主要底面と熱接触下にある多数ゾーンのフィルムヒータより成る装置。

【請求項125】 請求項107の熱サイクル装置において、チューブの表面とウエルの表面との間に面一に嵌合するべく、各サンプルチューブ上に着座力を加えつつ、非同一の高さの配列サンプルチューブ内においてウエルに着座させる手段を更に具備した装置。

【請求項126】 請求項125の熱サイクル装置において、着座手段は前記サンプルチューブのための変形可能で柔軟で気密性のキャップと、垂直方向に変位可能なプラテンと、各チューブについて前記着座力を維持するべく前記プラテンを強制的に下降せしめるための制御手段とからなる装置。

【請求項127】 請求項126の熱サイクル装置において、前記プラテンは94～110°Cの範囲の加熱温度に維持される装置。

【請求項128】 請求項127の熱サイクル装置において、前記プラテンは100～110°Cの範囲の温度に維持される装置。

【請求項129】 請求項107から128のいずれかの熱サイクル装置において、前記加熱手段を制御するコンピュータシステムを更に具備した装置。

【請求項130】 請求項119から124のいずれかの熱サイクル装置において、前記コンピュータシステムは前記ランプ冷却手段を制御する装置。

【請求項131】 ポリメラーゼ連鎖反応の自動かつ迅速性を得るための熱サイクル装置であって、

(a) 主要上面と主要底面とを有した低質量の熱的均質な金属サンプルブロックを具備し、該サンプルブロックは、その上面の中心領域に、産業標準のマイクロタイタプレートフォーマットとコンパチブルな中心間隔の8×12の矩形配列のサンプルウエルを具備し、前記ブロックは配列を包囲する周囲領域を具備し、前記周囲領域は中心領域の熱特性と類似した熱特性の防護バンドを有しており、

(b) 温度範囲が35～100°Cの場合、外部熱が加わらないとして、少くとも約0.1°C毎秒の速度で均質にブロックを冷却せしめるため、サンプルブロックにバイアス冷却を絶えず加えるバイアス冷却システムと、

(c) 複数の反応サイクルを規定する時間及び温度に関するユーザデータを受容しあつ格納するコンピュータシステムと、

(d) 100°Cからは少くとも約4°C每秒の、40°Cからは少くとも約2°Cのランプ冷却速度でサンプルブロックを選択的に冷却せしめるためコンピュータシステムによって制御されるランプ冷却システムと、

(e) ブロックの中心ゾーンのための加熱ゾーンと、防護バンドのための加熱ゾーンとを具備しコンピュータシステムによって制御される多数ゾーン加熱システムとを具備し、該加熱システムは35~100°Cの範囲における一定温度にサンプルブロックを維持するのに必要な熱を発生することができ、かつブロックに対してランプ冷却を付与することができ、

(f) 前記ブロックの上方を垂直に変位可能な加圧カバーと、

(g) 前記カバーを上昇しつつカバーを下降し、少くとも約3000グラムの抵抗力に対して垂直を維持するカバー変位手段とを具備し、熱サイクル装置は±0.5°Cの公差巾で35~100°Cの範囲の一定温度にサンプルウエル配列を維持することができる装置。

【請求項132】 請求項131の熱サイクル装置において、前記加圧カバーは94から110°Cの範囲の温度に維持することができる加熱プラテンを具備する装置。

【請求項133】 請求項131の熱サイクル装置において、前記多数ゾーン加熱システムはサンプルブロックの底面と熱接触下にあるフィルムヒータより成る装置。

【請求項134】 請求項133の熱サイクル装置において、前記バイアス冷却システムは、ブロックを介して前記上面と平行でかつウエル列と平行にかつウエル列から離間した一連のバイアス冷却チャンネルと、前記バイアス冷却チャンネルを通して冷却液体を圧送するポンプ手段とからなる装置。

【請求項135】 請求項134の熱サイクル装置において、前記ランプ冷却システムは、ブロックを介してバイアス冷却チャンネルに平行でかつ該バイアス冷却チャンネルから離間すると共にウエル列から離間した一連のランプ冷却チャンネルと、前記ランプ冷却チャンネルを通して冷却液体を圧送し、継続するランプ冷却チャンネルの対向端に流入せしめるポンプ手段とからなる装置。

【請求項136】 前記各試料ウェルの近傍に1つのバイアス経路と、1つのランプ冷却経路とを備えた請求項135に記載の熱サイクル装置。

【請求項137】 予め選定されたデザインのマイクロタイマー試料管を96本まで緩く保持するための、2つの部分から成るプラスティック製の保持手段と、該保持手段内に96本までのマイクロタイマー試料管とを具備し、

前記各マイクロタイマー試料管は、その頂部において開口した円筒形状の上部部材と、閉鎖され、先端が細くなり、そこから下方に延設された下部部材とを有しており、そして前記各マイクロタイマー試料管は、円形の断

面形状しており、そして円周の肩部を有しており、該肩部は、前記上部部材の開口端部の下方位置において、前記上部部材から延設されており、

前記2つ部分から成るプラスティック製の保持手段は、一体的なトレー部材と、前記トレーに全ての試料管を留める、前記トレーの内側に係合、解除可能な一体的な保持具(リテーナ)とを具備し、

前記一体的なトレー部材は、工業規格のマイクロタイマープレートの形式と互換性がある8行12列の配列の96の穴部を備えた平坦な、水平なプレート部材を具備し、前記穴部の直径は、前記管の上部部材の外径よりも僅かに大きく、そして前記肩部の外径よりも小さくなっている、

前記一体的なトレー部材は、更に、前記プレートの周囲を完全に包囲し、前記穴部内に配置された管の高さよりも高く上方に延設された、鉛直方向の第1トレー側壁部材と、

前記プレートの周囲を完全に包囲し、前記穴部内に配置された管の上部部材のほぼ底部まで、下方に延設された鉛直方向の第2トレー側壁部材とを具備し、

前記一体的な保持具は、工業規格のマイクロタイマープレートの形式と互換性がある8行12列の配列の96の穴部を備えた平坦な、水平なプレート部材を具備し、前記穴部の直径は、前記管の上部部材の外径よりも僅かに大きく、そして前記肩部の外径よりも小さくなっている、

更に前記一体的な保持具は、前記保持具プレート部材の周囲を包囲し、該プレートから上方に延設された鉛直方向の保持具側壁部材を具備しており、

前記保持具は、前記トレーの内側に係合し、前記保持具プレート部材は、該トレー内に備えられた管の肩部から僅かに上方に配置されており、前記トレー側壁部材は、前記保持具側壁部材とほぼ同じ高さと成っており、以て該トレー内に備えられた前記管は、鉛直方向、水平方向の両方向に緩く保持され、そして前記試料ウェル内に下方に延設されており、

前記96本までの各マイクロタイマー試料管は、それに備えられた気密シールを形成するための、変形自在のキャップに係合し、そして前記各キャップは、前記試料管が、前記2つの部分から成るプラスティック製の保持器内、そして前記試料ウェル内に着座するとき、前記2つの部分から成るプラスティック製の保持器の最上端部より僅かに上方に突起する請求項131に記載の熱サイクル装置。

【請求項138】 前記カバーの下方への押し出しは、前記2つの部分から成るプラスティック製の保持器の最上端部により停止されるまで、前記キャップの頂部を変形する請求項137に記載の熱サイクル装置。

【請求項139】 前記2つの部分から成るプラスティック製の保持器の最上端部は、前記端部の全周に渡って

前記カバーに接触し、以て気密シールを形成する請求項

138に記載の熱サイクル装置。

【請求項140】 ガードバンドのための少なくとも2つの加熱領域を具備する請求項131に記載の熱サイクル装置。

【請求項141】 予め選定されたデザインのマイクロタイターサプリング管を96本まで緩く保持するための、2つの部分より成る保持器において、

前記各マイクロタイター試料管は、その頂部において開口した円筒形状の上部部材と、閉鎖され、先端が細くなり、そこから下方に延設された下部部材とを有しており、そして前記各マイクロタイター試料管は、円形の断面形状しており、そして円周の肩部を有しており、該肩部は、前記上部部材の開口端部の下方位置において、前記上部部材から延設されており、

該保持器は、一体的なトレー部材と、前記トレーに全ての試料管を留める前記トレーの内側に係合、解除可能な一体的な保持具(リテーナ)とを具備し、

前記一体的なトレー部材は、工業規格のマイクロタイタープレートの形式と互換性がある8行12列の配列の96の穴部を備えた平坦な、水平なプレート部材を具備し、前記穴部の直径は、前記管の上部部材の外径よりも僅かに大きく、そして前記肩部の外径よりも小さくなつており、

前記一体的なトレー部材は、更に、前記プレートの周囲を完全に包囲し、前記穴部内に配置された管の高さよりも高く上方に延設された、鉛直方向の第1トレー側壁部材と、

前記プレートの周囲を完全に包囲し、前記穴部内に配置された管の上部部材のほぼ底部まで、下方に延設された鉛直方向の第2トレー側壁部材とを具備し、

前記一体的な保持具は、工業規格のマイクロタイタープレートの形式と互換性がある8行12列の配列の96の穴部を備えた平坦な、水平なプレート部材を具備し、前記穴部の直径は、前記管の上部部材の外径よりも僅かに大きく、そして前記肩部の外径よりも小さくなつております、

更に前記一体的な保持具は、前記保持具プレート部材の周囲を包囲し、該プレートから上方に延設された鉛直方向の保持具側壁部材を具備しております、

前記保持具は、前記トレーの内側に係合し、前記保持具プレート部材は、該トレー内に備えられた管の肩部から僅かに上方に配置されており、前記トレー側壁部材は、前記保持具側壁部材とほぼ同じ高さと成っており、以て該トレー内に備えられた前記管を、鉛直方向、水平方向の両方向に緩く保持する2つの部分から成るプラスティック製の保持器。

【請求項142】 前記トレー部材内の前記穴部は、円錐上に形成され、そして前記管の肩部の下側は、前期穴部の形状に合致する傾斜部を有する請求項141に記載

の装置。

【請求項143】 前記トレー部材、及び前記保持具プレート部材の穴部は、前記管の直径よりも0.7mm大きく成っている請求項142に記載の装置。

【請求項144】 前記トレー部材は、更に同トレー部材の下側に沿って、前記穴部の列の間に複数の支持リブを具備し、該リブは、下方に前記鉛直方向の第2側壁部材と同じ領域に延設されている請求項141に記載の装置。

【請求項145】 前記トレー部材は、更に同トレー部材の周囲の少なくとも一部に延設され、同部材から鉛直方向に垂設されたスカート部材を具備し、該スカート部材は、熱サイクル用試料ブロック内のガードバンド溝内に嵌め込むように成っている請求項141に記載の装置。

【請求項146】 前記トレー部材は、そこに備えられた少なくとも2つの開口部を有し、そして前記保持具プレート部材は、該保持具プレート部材から下方に延設された、同じ数の鉛直方向の管を有しており、前記保持具が前記トレーと組み立てられるときに、前記管が、前記開口部を貫通し、そして前記トレーと緩く係合するようになつていている請求項141に記載の装置。

【請求項147】 前記管は、前記トレー部材の周囲の少なくとも一部に延設され、同部材から鉛直方向に垂設されたスカート部材の部分を形成するように配置されており、そしてそこで該管は、熱サイクル用試料ブロック内のガードバンド溝内に嵌め込むように成っている請求項146に記載の装置。

【請求項148】 前記開口部と前記管は、夫々係合する際、前記保持具と、前記トレーが相互に只1つの方向を取れるように配置されている請求項147に記載の装置。

【請求項149】 前記管は、前記開口部に位置決めして挿入するために、横方向に偏向可能となつていて請求項146に記載の装置。

【請求項150】 更に、前記保持具に前記マイクロタイターサプリング管を96本まで具備している請求項141に記載の装置。

【請求項151】 更に、前記管に前記変形可能なキャップを96個まで具備し、その上に気密シールを形成する請求項150に記載の装置。

【請求項152】 前記各キャップは、前記各管と共に気密シールを形成するための、下方に垂設された円筒形のフランジと、前記フランジから外方に延設された、周囲を囲う肩部とを有しており、前記肩部は、前記フランジが所定の位置の下側の前記管に着座することを防止する請求項151に記載の装置。

【請求項153】 前記下方に垂設された外周部は滑合し、前記管の内周に気密シールを形成する請求項152に記載の装置。

【請求項 154】 12個の前記キャップから成るグループは相互に連結しており、12個の前記管の気密シールを形成するように適切に離隔した1条のストランドを形成している請求項151に記載の装置。

【請求項 155】 更に、8行12列の矩形配列に配置された96個のウェルを有したプラスティック製の基盤を具備し、

前記ウェルは、前記96本の試料管の下部部材を正しく受承するような大きさと成っており、前記基盤は、前記トレー、前記保持具、及び前記96本の管と組み立て可能に成っており、工業規格のマイクロタイタープレートのフットプリントを有する、マイクロタイタープレートを形成する請求項141に記載の装置。

【請求項 156】 前記キャップは前記鉛直方向の第1トレー側壁部材の上方に突起するが、然しながら該部材の高まで下方に変形可能と成っている請求項151に記載の装置。

【請求項 157】 前記キャップは熱、及び鉛直下方の作用力により変形可能となっている請求項156に記載の装置。

【請求項 158】 前記キャップは、弾性的に変形可能となっている請求項156に記載の装置。

【請求項 159】 相互に離隔して配列されたウェルを有する金属製の試料ブロックを具備し、前記各ウェルは、内面を有し、そしてキャップされた1つ、或いはそれ以上の試料管を備えられており、前記試料管は、最上端部を有するマイクロタイタープレート内に配置された試料混合物を内包し、そして前記プレートは、前記試料ブロックに着座された、ポリメラーゼ連鎖反応を実施するのに適した熱サイクル装置において、

前記キャップされた試料管を囲うためのカバーであつて、

平坦で水平方向の矩形部分と、

下方に突起しそしてその周囲に沿ったスカート部分と、少なくとも前記水平方向のプレートの下側に加熱装置とを具備し、

該カバーに熱が加えられ、そして下向きの力が作用することにより、前記試料管のキャップが変形するとき、該カバーは、前記試料ブロックに接触し、そして前記マイクロタイタープレートと、前記試料ブロック上の前記試料管を囲うような大きさと成っているカバー。

【請求項 160】 前記側面部分は、前記カバーが、前記マイクロタイタープレートを囲う際、前記カバーの下側が、前記プレートの最上端部に接触するのと同時に、前記スカート部分が、前記試料ブロックに接触するような大きさとなっている請求項159に記載のカバー。

【請求項 161】 前記下向きの作用力は、前記各試料管の下部と、前記部分を含んで成る前記ウェルの内面とのしっかりとした接触を確保するのに充分となっている請求項160に記載のカバー。

【請求項 162】 前記カバーをある高さから、他の高さに可動させるためのノブと、ネジ手段とを具備し、前記ノブと、ネジ手段は、前記カバーが前記最上端部に接触する高さに対応する、前記ノブの位置を指示する指示手段を具備している請求項159に記載のカバー。

【請求項 163】 前記キャップと、前記前記試料管の前記試料ウェルの上方に位置する部分を加熱し、前記1本、或いはそれ以上の管内の前記試料混合物からの蒸気の凝縮点よりも高い温度とするための加熱手段を具備している請求項159に記載のカバー。

【請求項 164】 試料混合物を内包した、少なくとも1本のプラスティック製の試料管が着座する、ポリメラーゼ連鎖反応を実施するのに適した熱サイクル装置において、

前記少なくとも1本の試料管と前記試料ウェルとを、密着接触させるようにする加熱されたカバーを有する改良構造。

【請求項 165】 略円錐形状をした第1壁部分と、略円柱形状をした第2壁部分とを具備し、前記第1壁部分は、その全外面に渡って熱交換器の対応する形状部分に接触するようになっており、前記第1壁部分は、壁部の断面において実質的に前記第2壁部分よりも薄く成っている使い捨ての反応容器。

【請求項 166】 前記円筒形状の第2壁部分が係合する際、気密シールを形成するキャップを受承するようになっている請求項165に記載の反応容器。

【請求項 167】 前記反応容器を貫通する長手方向の軸線と、略円錐形状の前記第1壁部分とにより画定される角度が、約17°と成っている請求項165に記載の反応容器。

【請求項 168】 前記第1壁部分は、壁部の断面において、約0.23mm(0.009inch)から約0.30mm(0.012inch)となっている請求項167に記載の反応容器。

【請求項 169】 前記第2壁部分は、壁部の断面において約0.30mm(0.012inch)となっている請求項168に記載の反応容器。

【請求項 170】 オートクレーブ処理可能なプラスティックにより製造された請求項165に記載の反応容器。

【請求項 171】 ポリプロピレンにより製造された請求項170に記載の反応容器。

【請求項 172】 前記反応容器にウェブにより結合し、そして前記第2壁部分の上部の気密シールを形成可能なキャップを具備している請求項165に記載の反応容器。

【請求項 173】 前記キャップが前記第2壁部分の上部の頂上に配置されるとき、該キャップを変形させる下向きの作用力に耐える充分な強度を有している請求項172に記載の反応容器。

【請求項174】 前記第2壁部分の外側から外方に延設された、環状のフランジを具備している請求項165に記載の反応容器。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ポリメラーゼ連鎖反応（以後PCRという）を実施するためのコンピュータ制御の機器の分野に関する。より詳しくは、本発明は、多数の試料についてポリメラーゼ連鎖反応を同時に実施して、各試料についての結果を非常に高い精度で得ることができる自動化機器に関する。この高い精度は、なかでも、いわゆる「定量的PCR」を実施する可能性を提供する。

【0002】

【従来の技術】 PCRプロセスを使用してDNA（デオキシリボース核酸）を増幅するために、特別に構成した液状反応混合物を、いくつかの異なる温度のインキュベーション期間を含むPCRプロトコルを通してサイクルすることが必要である。反応混合物は種々の成分、例えば、増幅すべきDNAおよび少なくとも2つのプライマーから構成され、前記プライマーは増幅すべきDNAの伸長産生物をつくることができるよう、試料のDNAに対し十分に相補的であるように所定の方法で選択される。反応混合物は、種々の酵素および／または他の試薬、ならびにいくつかのデオキシリボヌクレオシドトリホスフェート、例えば、dATP, dCTP, dGTPおよびdTTPを包含する。一般に、プライマーはオリゴヌクレオチドであり、核酸の鎖に対し相補的であるプライマーの伸長産生物の合成を誘発する条件下に、すなわち、ヌクレオチドおよび誘発因子、例えば、熱安定性DNAポリメラーゼの存在下に適当な温度およびpHにおいて、配置したとき、合成の開始点として作用することができる。

【0003】ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）は、主として非常に簡単でありそして要求される設備のコストが比較的低いので、遺伝的分析に現象的に有望な技術であることが証明されている。PCRに対して重要なことは、サーモサイクリングの概念である。すなわち、DNAを溶融し、短いプライマーを一本鎖が得られるようアーニーリングし、そしてそれらのプライマーを伸長して二本鎖のDNAの新しいコピーをつくるという交互にする工程である。サーモサイクリングにおいて、PCR混合物はDNAを溶融するための高い温度(>90°C)から、プライマーのアーニーリングおよび伸長のためのより低い温度(40°C~70°C)に反復してサイクリングされる。PCRにおいて要求されるサーモサイクリングを実施するための最初の商業的システムであるパーキン・エルマー・シータス・DNA・サーマル・サイクラー(Perkin-Elmer Cetus DNA Thermal Cycler)は、1987年に導入された。

【0004】 PCRのための応用は、現在、基本的な研究から、多数の同様な増幅工程を日常的に実施する応用へと動きつつある。これらの応用範囲は、診断的研究、生物製剤学的開発、遺伝子の分析、および環境的試験を包含する。これらの応用範囲におけるユーザは、高い処理量、迅速な回転時間、および再現性ある結果を提供する高性能のPCRシステムから利益を受けるであろう。また、これらの応用範囲におけるユーザは、試料対試料、実験対実験、実験室対実験室、および計器対計器からの再現性を保証されるにちがいない。

【0005】例えば、ヒトのゲノムのプロジェクトにおける物理学的マッピングのプロセスは、配列標的部位(STS)を利用することによって、大きく簡素化することができる。STSは、PCRにより容易に増幅され、そして染色体上の位置を同定する短くかつ独特な配列である。このような部位を検査してゲノムの地図を作ることは、世界中を通じて再現性をもって実施することができるプロトコルを使用して、短い時間で、多数の試料を増幅することを必要とする。

【0006】PCRの試料の数が増加するにつれて、増幅工程を試料の調製および増幅後の分析と統合することがいっそう重要となる。試料の容器は急速なサーマルサイクリングを可能とするばかりでなく、かつまた溶媒抽出および遠心分離等の操作のための自動化された取り扱いを可能としなくてはならない。容器は絶えず小さい体積で働いて、試薬のコストを減少する。

【0007】一般に、PCRのサーマルサイクリングは異なる温度における少なくとも2回のインキュベーションを含む。これらのインキュベーションの一方は、プライマーの雑種形成および触媒されたプライマーの伸長反応用のものである。他方のインキュベーションは変性、すなわち、二本鎖の伸長産生物を次の雑種形成および伸長インキュベーション間隔において使用するための、一本鎖の型に分離するためのものである。PCRの詳細、PCRに必要な温度サイクルおよび反応条件、ならびにこの反応の実施に必要な種々の試薬および酵素は、米国特許第4,683,202号、米国特許第4,683,195号、EPO公報258,017号および4,889,818号(Taqポリメラーゼ酵素の特許)およびすべての他のPCRの特許(出願人、シータス・コーポレーション)に記載されている。

【0008】PCRの目的は、最初に供給した小さい体積の「種子」DNAと同一の、DNAを大きい体積で調製することである。この反応は、DNAの鎖をコピーし、次いで引き続くサイクルにおいてコピーを使用して他のコピーを発生することを包含する。理想的な条件下に、各サイクルは存在するDNAの量を2倍にし、これにより幾何学的進行において、反応混合物の中に存在する体積の「標的」または「種子」のDNAの鎖のコピーを生ずる。

【0009】典型的なPCRの温度サイクルにおいて、反応混合物を各インキュベーション温度に規定した時間の間正確に保持すること、および同一のサイクルまたは同様なサイクルを多数回反復することが必要である。典型的なPCRプログラムを94℃の試料温度で開始して30秒間保持して、反応混合物を変性する。次いで、反応混合物の温度を37℃に下げ、そして1分間保持してプライマーを雑種形成させる。次に、反応混合物の温度を50℃～72℃の範囲の温度に上げ、ここでそれを2分間保持して伸長産生物の合成を促進する。これは1サイクルを完結する。次いで、前のサイクルにおいて形成する伸長産生物の鎖の分離のために、反応混合物の温度を94℃に上げることによって、次のPCRサイクルを開始する(変性)。典型的には、サイクルは25～30回反復する。

【0010】一般に、試料温度をサイクルにおいて、いくつかの理由で出来るだけ次の温度に迅速に変化することが望ましい。第1に、化学的反応はその段階の各々について最適な温度を有する。したがって、最適でない温度における消費時間が少ないことは、よりよい化学的結果が達成されることを意味する。他の理由は、各インキュベーション温度に到達後、各インキュベーション温度に反応混合物を保持する時間を最小することが必要であるということである。これらの最小のインキュベーション時間は、サイクルの完結に要する「床」または最短時間で確立する。試料のインキュベーション時間の間の遷移時間は、この最小サイクル時間に付加される時間である。サイクルの数はかなり大きいので、この追加の時間は増幅の完結に要する合計の時間を必要に長くする。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】いくつかの従来の自動化されたPCRの計器においては、反応混合物はキャップで閉じた、使い捨てプラスチック管の中に貯蔵されていた。このような管のための典型的な試料の体積はほぼ100μlであった。典型的には、このような計器は試料のDNAを充填した多数のこのような管を使用し、そして反応混合物は金属のブロック中の試料のウェル(well)と呼ぶ孔に挿入されていた。PCRプロセスを実施するために、PCRプロトコルのファイルにおいてユーザにより特定された規定した温度および時間に従い、金属ブロックの温度を制御する。次いで、コンピュータおよび関連するエレクトロニクスは、時間、温度およびサイクルの数などを規定するPCRプロトコルのファイル中のユーザの供給したデータに従い、金属ブロックの温度の変化にしたがって、種々の管の中の試料も同様の温度変化をさせる。しかしながら、これらの先行技術の計器において、すべての試料が正確に同一の温度サイクルを経験したわけではなかった。これらの先行技術の計器において、試料温度における誤差は金属の試料ブロック内の場所対場所の温度の不均一性、すなわち、ブ

ロックの金属内に存在する温度勾配により発生し、これによりある試料はサイクルの特定の時間において他の試料と異なる温度を有していた。さらに、熱を試料ブロックから試料に伝えるときの遅延が存在したが、遅延はすべての試料について同一ではなかった。PCRプロセスを首尾よくかつ効率よく実施するために、かつてわゆる「定量的」PCRを可能するために、これらの温度の遅延および温度の誤差は大きい程度に最小としなくてはならない。

【0012】試料の液体の熱の出入りのための時間の遅延を最小にしそして金属ブロック上の種々の点における温度勾配または温度の不均一性のための温度の誤差を最小にするという問題は、試料を含有する領域の大きさが大きくなるとき、とくに重大となる。工業的に標準のマイクロタイタープレートのフォーマットの中に配置された96の試料管を収容するために十分に大きい金属ブロックを有することは、PCR計器にとって高度に望ましい属性である。マイクロタイタープレートは、生化学およびバイオテクノロジーの分野において多数の小さい試料を取り扱い、処理しそして分析するために、広く使用されている手段である。典型的には、マイクロタイタープレートは、3+5/8インチ(9.2cm)幅および5インチ(12.7cm)長さであり、そして9mmの中央に8ウェル×12ウェルの長方形の列の中に96の同一の試料ウェルを含有するトレーである。マイクロタイタープレートは広範な種類の材料、形状および体積の試料ウェルで入手可能であり、それらは多数の異なる使用について最適化されているが、すべてのマイクロタイタープレートは同一の全体の外側寸法および9mmの中央に同一の8×12のウェルの列を有する。この標準のマイクロタイタープレートのフォーマットにおける試料の取り扱い、処理および分析を自動化するための、広範な種類の装置は入手可能である。

【0013】一般に、マイクロタイタープレートは、射出成形または真空成形されたプラスチックで作られ、そして安価であり、使い捨て可能であると考えられる。相互汚染から生ずる法律上の責任および使用後のマイクロタイタープレートの洗浄および乾燥の困難のために、使い捨て可能性は極めて望ましい。したがって、マイクロタイタープレートのフォーマットで配置されている96までの試料について同時にPCR反応を実施できることは、PCR計器について極めて望ましい特性である。

【0014】もちろん、9mmの中央上の8×12ウェルの列の96試料を加熱および冷却するために必要な金属ブロックの大きさは、かなり大きい。この大きい面積のブロックは、一般に0～100℃の温度範囲に試料間の温度の変動についての許容度を非常に小さくしてこのようなブロックを非常に急速に加熱および冷却できるPCR計器の設計について、多数の対応すべき工業的問題を生じる。これらの問題はいくつかの原因から生ずる。第

1に、ブロックの大きい熱的質量は、ブロックの温度を操作範囲内で大きい速度で上下させることを困難とさせる。第2に、種々の装置、例えば、冷却液の供給および抜き出しのためにマニホールド、ブロックの支持取り付け点、および関連する他の周辺装置にブロックを取り付ける必要性は、許容可能な限界を超えた温度勾配がブロックを横切って存在する可能性が生じる。

【0015】また、多数の試料の急速な、正確な温度サイクルを必要とするPCR反応または他の反応の自動化実施のための、サーマルサイクリング装置の設計における要件の間に、多数の他の衝害が存在する。例えば、金属ブロックの温度を急速に変化させるために、大量の熱を短い時間で試料ブロックから出入りさせなくてはならない。熱は電気抵抗ヒータからか、あるいは加熱された流体をブロックと接触させて流すことによって添加することができる。熱は冷却された流体をブロックと接触させて流すことによって急速に除去できる。しかしながら、これらの手段により、試料の間で温度の不均一性を生じる温度勾配を形成するようなブロック中の場所対場所で大きい温度差をつくることで、金属ブロックに大量の加熱を迅速に出入りさせることは不可能であるように思われる。

【0016】熱の添加または除去の終了後でさえ、ブロック中の種々の点において貯蔵された熱がより冷たい領域に移動して温度勾配を排除しなくてはならない距離の平方にほぼ比例する時間の間、温度勾配は持続することができる。こうして、金属ブロックをより多くの試料を収容するためにより大きく作ると、温度変化がより大きい寸法のブロックを横切って存在する温度勾配を引き起こした後ブロックの中に存在する温度勾配が消滅するために要する時間は顕著に長くなる場合がある。これは、すべての試料の間で正確な温度の均一性を維持しながら、試料ブロックの温度を急速にサイクルする困難を増加させる。温度勾配を消散させるに要する時間に起因して、ブロック中の大きい距離にわたって存在する温度勾配の発生を防止するために、高い性能のPCR計器の設計において、重要な必要性が発生した。他の必要性は、金属部分またはブロックに取り付けられた他の周辺装置の間の機械的境界を横切って熱が移動するという要件を、出来るだけ非常に多く、回避することである。接合部を横切ってすべての場所で高い温度伝導性を均一に保証する方法で、金属部分を接合することは困難である。熱伝導性の不均一性は望ましくない温度勾配を発生するであろう。

【0017】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、試料ブロック中の試料温度の変化と反応混合物中の対応する温度変化との間の遅延を減少するための、薄い壁の試料管が開示される。2つの異なる大きさの試料管を開示するが、各々は試料ブロック中の合致する円錐形のくぼみの

中に嵌合する薄壁の円錐形区画を有する。典型的には、縦軸に関して17°の角度をもつ円錐を使用して、試料ブロックの中への管のジャミングを防止するが、すべり止めを可能とする。他の形状および角度も、本発明を実施するために十分であろう。また、試料ブロック以外の、例えば、液体浴、オープンなどの、他の型の熱交換器を使用することができる。しかしながら、何らかの熱交換器と接触する試料管の部分の壁厚さは、PCRのサイクリングの熱的応力および通常の使用の応力に十分に耐えられる範囲内で、出来るだけ薄くあるべきである。典型的には、試料管はオートクレーブ処理可能なポリプロピレン、例えば、0.009~0.012インチ±0.001インチ(0.23~0.30mm±0.03mm)の範囲の円錐形部分の壁厚さをもつHi mont PD701から作られる。より好ましくは、壁厚さは0.012インチ(0.30mm)である。

【0018】好ましい実施態様において、試料管は、また、円錐形部分と接合する、より薄い壁の円筒形部分を有する。この円錐形部分はもとの反応混合物またはPCRプロセス後に添加できる試薬を含有する。図51に示す試料管は、他のPCRシステムにおける適合性のための薄い壁を除いて、工業的に標準の形状を有する。図15の試料管は、ここに開示するシステムとともに使用できる、短い管である。薄い壁の試料管の使用が好ましいシステム環境の他の実施態様を以下に要約する。非常に急速な温度サイクルのPCRプロトコルの実施の間に、マイクロタイタープレートのフォーマットにおいて配置された非常に大きい数の試料について、非常に正確な温度制御を達成する新規な方法および装置をさらに開示する。本発明の教示は、試料ブロック、試料管および支持の取り付け、加熱および冷却装置、制御エレクトロニクスおよびソフトウェアについての新規な構造、新規なユーザのインターフェースおよびPCRプロトコルを実施するために前記装置を使用する新規な方法を包含する。

【0019】ここに開示される装置は、多数の試料を横切って温度制御の非常に精密な許容度で96までの試料についてPCR遺伝子增幅を実施するように設計される。すなわち、すべての試料は、異なる試料を含有する異なるウェルの間の温度差を非常に小さくして同時に温度が上下する。これはポリメラーゼ連鎖反応のサイクルを通じて真実である。また、この装置は、各試料ウェル中の蒸発および凝縮のプロセスの制御により、反応混合物の濃度を非常に厳密に制御することができる。さらに、この装置は、試料ウェルの間の相互汚染を実質的になくして、各々が異なるドナー源からの100μlの96までの試料を処理することができる。本発明は、標準の96ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットにおいてアルミニウムの試料ブロックを加熱および冷却して試料を熱的にサイクリングし、その結果、急速なサーマルサイクリング速度、制御しない変化する周囲温

度および他の操作条件、例えば、電力ラインの電圧および冷却液温度にかかわらず、きわめてすぐれた試料対試料の均一性が存在する新規な方法を包含する。

【0020】また、本発明は、各試料管が加熱されたカバーからの下降する圧力下に試料ブロックと最良の嵌合を見いだすために十分な個々の動きの自由度を有するとともに、サーマルサイクリングのためのDNAを含有する96までの個々の試料管を収容する、使い捨てプラスチック96ウェルのマイクロタイタープレートのための新規な構成を包含する。各管の最良の嵌合を可能とすることによって、試料ブロックの金属と試料管およびマイクロタイタープレートの構造のプラスチックとの間の熱的膨張および収縮の速度の差が、使い捨てマイクロタイタープレートの構造において、試料管の中心対中心の距離に関して、試料ブロック中のウェルの相対的中心対中心の寸法を変化させる場合でさえ、マイクロタイタープレートの構造は試料ブロック対各試料管の高くかつ均一な熱伝導性を提供する。

【0021】さらに、本発明は、処理されている試料の温度を直接測定しないで、これらの温度を連続的に計算しきつ表示する能力を有した、PCR計器を制御する新規な方法および装置を包含する。これらの計算された温度を使用して、試料が各標記インキュベーション温度について所定の温度の許容度の帯域内に保持される時間を制御する。この制御システムは、また、試料ブロックに熱的に連結した3ゾーンのヒータを制御し、そして試料ブロック中の方向的に交錯したランプ冷却チャンネルを通して流体の流れをゲート(gate)し、流体の流れは、試料ブロックを通る冷却液の一定のバイアス冷却流と組み合ったとき、ユーザが特定する標的温度への急速な温度変化およびその温度における正確な温度制御を達成する設備を提供する。3ゾーンのヒータを制御する方法および装置は、なかでも、3ゾーンのヒータの種々のゾーンへ供給すべき電気的エネルギーの量を計算するとき、ライン電圧、ブロック温度、冷却液温度および周囲温度を考慮する装置を含んでいる。このヒータは、試料ブロックのへりまたは「ガードバンド」の下で別々に制御することができ、こうして試料ブロックのへりへ取り付けられた周辺装置を通る周囲への過剰の熱損失を補償できるようにする、ゾーンを有する。これは温度勾配の形成を防止する。

【0022】さらに、本発明は、試料をそれらの沸点付近の温度においてインキュベーションするとき、反応混合物からの溶媒の損失を防止する新規な方法および装置を包含する。加熱された定盤は試料管の上部をカバーし、そして個々のキャップと接触し、これらのキャップは各試料管に気密シールを提供する。定盤からの熱は各試料管およびキャップの上部を凝縮点より上の温度に加熱するので、試料管内で凝縮および還流は起こらない。凝縮は比較的大きい熱移動を表す。なぜなら、蒸発熱に

等しい量の熱が水蒸気の凝縮に消費されるからである。これは、凝縮が均一に起こらない場合、試料から試料への大きい温度の変動を引き起こすことがある。加熱された定盤は、試料管中の凝縮の発生を防止し、これによりこの潜在的な温度誤差源を最小にする。加熱された定盤の使用は、また、試薬の消費を減少する。

【0023】さらに、加熱された定盤は、すべての試料管を温度制御した試料ブロックの中にしっかりと押し込んで各管について均一なブロック対管の熱伝導を確立しつ維持するために必要な、実験的に決定した最小の下向きの力を越える下向きの力を各試料管に与える。熱伝導のこの均一性は、管対管の長さ、直径、角度または他の寸法の誤差の変動に無関係に確立され、これらはそうでなければある試料管を他の試料管より対応する試料ウェルの中によりきっちりと嵌合させる。加熱された定盤は、各キャップのプラスチックを軟化するが、キャップの弾性を完全には破壊しない。こうして、最小の限界の下向きの力を、管対管の管の高さの差にかかわらず、各管に連続的に加える。ここに記載するPCR計器は、2倍またはそれ以上サイクル時間を減少し、そしてPCR体積を20μlまで試薬のコストを下げるが、工業規格0.5mlのマイクロ遠心分離器管との適合性を残す。

【0024】

【実施例】図1を参照すると、本発明の教示に従いPCRを実施するためのコンピュータ制御の計器の1つの実施態様の主要なシステム要素のブロック線図が示されている。增幅すべきDNAまたはRNAを含む試料混合物を温度プログラムされた試料ブロック12の中に配置し、そして加熱されたカバー14でカバーする。ユーザは、キーボードおよびディスプレイを含む端子16を経て、所望のPCRプロトコルの時間および温度のパラメーターを定めるデータを供給する。キーボードおよびディスプレイはバス18を経て制御コンピュータ20(以後中央処理装置またはCPUと呼ぶ)に連結する。この中央処理装置20は、下に記載する制御プログラム、所望のPCRプロトコルおよび以下に記載するある種の較正定数を蓄積する記憶装置を包含する。制御プログラムはCPU20が試料ブロック12の温度サイクリングを制御するようにさせそしてユーザのインターフェースを実施し、そしてユーザのインターフェースはある種のディスプレイをユーザに提供し、そしてユーザにより端子16のキーボードを経て入力されたデータを受けとる。

【0025】好ましい実施態様において、中央処理装置20は特注設計される。エレクトロニクスのブロック線図は以下により詳細に論ずる。他の実施態様において、計器の種々のヒータおよび他の電気-機械的システムを制御そして種々のセンサーを読む中央処理装置20および関連する周辺エレクトロニクスは、任意の汎用コンピュータ、例えば、適当なプログラムによるパーソナルコンピュータまたはマイクロコンピュータである。試料

10を試料ブロック12の中に配置されたキャップ付き使い捨て管の中に貯蔵し、そして加熱されたカバー14により周囲空気から隔離し、そして加熱されたカバー14は以下に記載するプラスチックの使い捨てトレーと接触して、試料管が内部に存在する加熱された箱体を形成する。加熱されたカバーは、なかでも、試料管内の蒸発、凝縮および還流により、試料混合物を出入りする望ましくない熱移動を減少する働きをする。それは、また、キャップの内側を乾燥に保持し、これにより管からキャップを取ったとき、エアゾールの形成を防止することによって、相互汚染の機会を減少する。加熱されたカバーを試料管のキャップと接触させ、そしてそれらをほぼ104℃または反応混合物の種々の成分の凝縮点より上に加熱して保持する。

【0026】中央処理装置20は、加熱されたカバー14の温度を感知しそしてその中の電気抵抗ヒータを制御してカバー14を所定の温度に維持するために、適当なエレクトロニクスを包含する。加熱されたカバー14の温度の感知およびその中の抵抗ヒータの制御は、温度センサー(図示せず)およびバス22を経て達成される。冷却液制御システム24は、冷却された冷却液、例えば、自動車の不凍液と水の混合物を、試料ブロック12中のバイアス冷却チャンネル(図示せず)を通して、入力管26および出力管28を経て、連続的に循環させる。冷却液制御システム24は、また、試料ブロック12中より高い体積のランプ冷却流体の流路(図示せず)を通る流体の流れを制御する。ランプ冷却チャンネルを使用して、試料ブロック12を通して大きい体積の冷却された冷却液を比較的高い流速で送ることによつて、試料ブロック12の温度を急速に変化させる。ランプ冷却用冷却液は試料ブロック12に管30を通して入り、そして管32を通して試料ブロック12から出る。冷却液制御システムの詳細は図46に示されている。冷却液制御システムは、制御システムのエレクトロニクスおよびソフトウェアの説明において以下でより詳細に論ずる。

【0027】典型的には、試料ブロック12の冷却に使用する冷却液は、主として水とエチレングリコールとの混合物から成る。冷却液は熱交換器34により冷却され、そして熱交換器34は試料ブロック12から熱を抽出した冷却液を入力管36から受けとる。熱交換器34は、冷却装置40から入力管38を経て圧縮された液体のフレオン冷却剤を受けとる。この冷却装置40はコンプレッサー(図示せず)、ファン42およびフィン管加熱ラジエーター44を包含する。冷却装置40は、管46を経て熱交換器34から受けとったフレオンガスを圧縮する。気体のフレオンはフィン管凝縮器44において冷却されそして液体に凝縮される。液体のフレオンの存在は、絞り弁式毛管47によりフィン管凝縮器中のその蒸気圧より上に維持される。この毛管の出力は管38を

経て熱交換器34の入力部に連結される。熱交換器において、フレオンの圧力はフレオンの蒸気圧より下に低下し、そしてフレオンが膨張する。この膨張工程において、熱は熱交換器中を循環する加温された冷却液から吸収され、そしてこの熱はフレオンに移動し、これによりフレオンは沸騰するようになる。次いで、加温されたフレオンは熱交換器から管16を経て抽出され、そして圧縮されそして再びフィン管凝縮器44を通して循環される。ファン42はフィン管凝縮器44を通して矢印48で示すように空気を流して、フレオン中の熱を管46から周囲の空気と交換させる。冷却装置40は30℃において400ワットの熱および10℃において100ワットの熱を冷却液から抽出して、本発明の教示に従い急速な温度のサイクルを支持することができる。

【0028】好ましい実施態様において、図1の装置はハウジング(図示せず)内に囲まれている。周囲の空気へ追い出された熱48はハウジング内に保持され、冷却された冷却液またはフレオンを1つの場所から他の場所に運ぶ種々の管上に起こる凝縮の蒸発を促進する。凝縮は、装置またはエレクトロニクスの回路の構成において使用した金属の腐食を引き起こすことがあり、したがつて除去すべきものである。囲いの内側の熱48の放出は、凝縮の蒸発を促進して腐食を防止する。

【0029】その熱をフレオンと交換した後、冷却液は熱交換器34を管50を経て出て、冷却液制御システムに再び入り、ここで端子16を経てユーザが入れたデータにより定められるPCRサイクルの急速な冷却部分の間、冷却液は必要に応じて試料ブロックヘゲートされる。上記のように、PCRプロトコルは少なくとも2つの異なる温度およびしばしば3つの異なる温度におけるインキュベーションを包含する。典型的なPCRサイクルは図11に示されており、ここで変性インキュベーション170は94℃付近の温度において実施し、ハイブリダイゼーションインキュベーション122は室温付近の温度(25℃～37℃)において実施し、そして伸長インキュベーション174は50℃付近の温度において実施する。これらの温度は十分に異なり、したがつて、すべての試料の反応混合物の温度を1つの温度から他の温度に急速に動かす手段を準備しなくてはならない。ランプ冷却システムは、試料ブロック12の温度を高い温度の変性インキュベーションからより低い温度のハイブリダイゼーションインキュベーションおよび伸長インキュベーションの温度に急速に低下させる手段である。典型的には、冷却液の温度は10～20℃の範囲である。冷却液が20℃であるとき、それは約400ワットの熱を試料ブロックから送り出すことができる。典型的には、ランプ冷却チャンネルの寸法、冷却液の温度および冷却液の流速は、5～6℃/秒のピーク冷却が操作範囲の高い端(100℃)付近において達成され、かつ2.5℃/秒の平均の冷却速度が試料ブロックの温度を94

℃から37℃にすると達成されるようにセットする。

【0030】ランプ冷却システムは、ある実施態様において、試料ブロックの温度を標的のインキュベーション温度にまたはその付近に維持するために使用できる。しかしながら、好ましい実施態様において、標的インキュベーション温度を維持するための下向き試料ブロック12の小さい温度変化はバイアス冷却システムにより実施される。

【0031】図46に示すように、ポンプ41は濾過貯留槽39(130mlの容量)から1/2インチ管を経て冷却液を絶えず送り、そしてそれを1/2インチ管を経て分岐部47へ送る。ポンプ41は冷却液をパイプ45に1~1.3ガロン/分の一定の流速で供給する。分岐部47において、管45中の流れの部分はバイアス冷却チャンネル49を通して一定の流れとして転向する。管45中の流れの他の部分は、絞り弁51を通して出力管38に転向する。絞り弁51はこのシステムにおいて十分な圧力を維持し、こうしてバス54を経るCPU20の制御下に2状態のソレノイド作動弁55の入力53において正の圧力が存在する。ランプ冷却の急速な下向きの温度変化の実行が望ましいとき、CPU20はソレノイド作動弁55を開閉し、冷却液をランプ冷却チャンネル57を通して流れさせる。8つのランプ冷却チャンネルが存在するので、各ランプ冷却チャンネルを通る流量は約1/8ガロン/分である。バイアス冷却チャンネルを通る流量は、その大きく制限された断面積のために、非常に少ない。

【0032】バイアス冷却システムは、試料ブロック12中のバイアス冷却チャンネル49を通して冷却された冷却液の小さい一定の流れを提供する。これは試料ブロック12から一定の小さい熱損失を引き起こし、これはマルチゾーンヒータ156により補償され、マルチゾーンヒータ156は試料ブロックの温度を安定した値に維持すべきインキュベーションセグメントのために試料ブロック12に熱的に連結されている。バイアス冷却の流れにより引き起こされる一定の小さい熱損失は、小さい温度のための温度の上下の比例的制御を制御システムに実行させる。これが意味するように、両者の加熱および冷却を、制御された予測可能な小さい速度で温度サーボシステムは利用して、ブロック温度の誤差を補正してブロック温度が信頼性をもって、ユーザが入ったPCR温度のプロファイルをたどるようにする。別な方法はフィルムヒータへの電力をカットオフし、そしてブロック温度が高すぎたとき、試料ブロックが熱を放射および対流により周囲に放出するようにさせることである。これは、定量的PCRサイクリングのための厳密な温度制御の規格を満足するためには遅すぎそして予測不可能である。

【0033】このマルチゾーンヒータ156は図1においてCPU20によりバス52を経て制御され、そして試料ブロック12の温度をより低いインキュベーション

温度からより高いインキュベーション温度に急速に上昇させる手段であり、そしてバイアス冷却を補償しそしてインキュベーションの間の温度のトラッキング(追跡)および制御の間、温度誤差を上方に補正する手段である。他の実施態様において、バイアス冷却は使用しないようにしても良く、あるいは他の手段、例えば、試料ブロックの金属の中に形成された冷却ファンまたは冷却ファン、ペルチエ接合または絶えず循環する水道水により供給することができる。しかしながら、これらの他の実施態様において、温度勾配が試料ブロックの中に生じないように注意しなくてはならない。温度勾配はある試料の温度を他の試料と異なる温度にし、これによりある試料におけるPCR增幅の結果を他の試料のそれと異ならせる。好ましい実施態様において、バイアス冷却はブロック温度と冷却液温度との間の差に比例する。

【0034】CPU20は、図1において試料ブロック12の金属の温度を温度センサー21およびバス52を介して検知することによって、及び循環冷却液の温度をバス54および冷却液制御システムの温度センサーを介して感知することによって、試料ブロック12の温度を制御する。冷却液のための温度センサーは図46において61に示されている。CPUは、また、図1においてシステムのハウジングの内部の周囲空気の温度を周囲空気温度センサー56により感知する。さらに、CPU20はライン58の入力電力のライン電圧をセンサー63を介して感知する。データのすべてのこれらの項目は、所望のPCRプロトコル、例えば、インキュベーションのための目標温度および時間を定めるためにユーザが入力するデータの項目と一緒に、より詳細に後述する制御プログラムにより使用される。この制御プログラムは、マルチゾーン試料ブロックフィルムヒータ156の種々のゾーンへバス52を経て加える電力の量を計算し、そして冷却液制御システム24においてソレノイド作動弁55を開閉する冷却液制御信号をバス54を経て発生して、試料ブロックの温度が、ユーザが入力したデータにより定められるPCRプロトコルに従うようにさせる。

【0035】図2を参照すると、試料ブロック12の上面図が示されている。試料ブロック12の目的は、薄い壁の試料管の列のための機械的支持および熱交換部材を提供することであり、ここで各試料管中の試料の液体と試料ブロック12の中に形成されたバイアス冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルの中を流れる冷却液との間で熱が交換される。更に、試料ウェルの種々のものとの間で大きい温度勾配をつくらないでこの熱交換機能を提供し、列中のすべての試料混合物が、空間的に分離されていても、同一PCRサイクルを経験するようにさせることは、試料ブロック12の果すべき機能の一つである。ここに記載するPCR計器の全体の目的は、複数の試料について試料液体の温度を非常に厳密に制御し、こうしていずれの試料液体の温度も他の試料ウェル中の

いづれの他の試料液体の温度とPCRサイクルのいづれの点においても感知しうるほど（ほぼ±0.5°C）差が生じないようにすることである。

【0036】「定量的」PCRと呼ばれるPCR技術の分野が存在する。この技術において、この目的は標的DNAの量をサイクル毎に正確に2倍にすることによってPCR增幅を出来るだけ正確に実施することである。サイクル毎の正確な倍増は達成が困難であるか、あるいは不可能であるが、厳密な温度制御はこれを達成する上に役立つ。多数の誤差源が存在し、これらのために、PCRサイクルはサイクルの間の標的DNA（以後“DNA”はまた“RNA”を意味すると理解されたい）の量を正確に2倍にすることができないことがある。例えば、あるPCR增幅において、このプロセスは標的DNAの単一の細胞を使用して開始する。この単一の細胞が試料管の壁に粘着しそして最初の数サイクルで増幅しないようなとき、この誤差は容易に生じ得る。

【0037】誤差の他の型は、「外来」標的DNAを攻撃する外来ヌクレアーゼが反応混合物の中に入ることである。すべての細胞は、細胞内で遊離した外来DNAを攻撃する非特異的ヌクレアーゼを有する。これが起こるとき、それは複製プロセスを妨害するか、あるいは停止させる。こうして、1滴の唾液またはふけの粒子または他の試料混合物からの物質が試料混合物の中に偶発的にに入る場合、これらの細胞中のヌクレアーゼ物質は標的DNAを攻撃しそして増幅プロセスにおいて誤差を生ずる。すべてのこのような交差汚染源を排除することは高度に望ましい。他の誤差源は、試料の種類が多様である場合に生じる、試料混合物の温度制御の不正確さである。例えば、すべての試料が伸長インキュベーションのために適切なアニーリング温度（通常50～60°Cの範囲のユーザが選択した温度）を有するように正確に制御されない場合、DNAのある種の形態は適切に伸長されないであろう。これが起こる理由は、温度が低すぎる場合、伸長プロセスにおいて使用するプライマーが誤ったDNAにアニーリングすることである。アニーリング温度が高すぎる場合、プライマーは標的DNAにまったくアニーリングしない。

【0038】PCR增幅が診断試験、例えば、HIV抗体、肝炎、または遺伝病、例えば、镰状赤血球貧血などの存在についての診断試験の一部分であるとき、PCR增幅プロセスを不正確に実施した結果を容易に想像することができる。このような診断試験における誤った陽性または誤った陰性の結果は、個人的または法律的に破滅的な結果を生じることがある。したがって、ここに記載するPCR装置の設計の目的は、これらの起こりうる誤差源、例えば、交差汚染または劣悪な温度制御の出来るだけ多くを排除すると同時に、工業的に標準の96ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットと適合する装置を提供することである。この装置は簡単なユーザ

のインターフェースを使用して柔軟にPCRを高速で実施できるものでなくてはならない。好ましい実施態様において、試料ブロック12は比較的純度の高い、腐食抵抗性のアルミニウム、例えば、6061アルミニウム合金から機械加工する。アルミニウムの中実ブロックからブロック構造を機械加工すると、熱的に均質な構造が生ずる。鋳造したアルミニウム構造体は、非常に厳密な所望の温度制御の規格を満足するために必要なほど、熱的に均質にはなりにくい。

【0039】試料ブロック12の熱的質量は小さくされているので、急速な温度変化を行うことができる。これは多数の冷却通路、試料ウェル、みぞおよび他のねじ孔または非ねじ孔をブロックの中に形成することによって実施される。これらの孔のいくつかを使用して、ブロックを支持体に取り付けそして外部の装置、例えば、マニホールドおよびこぼれトレーを取り付ける。試料ブロックの構造の「ハニカム」性質を最もよく理解するために、ブロックを平面図で示す図2ならびに試料ブロックの正面図および断面図を示す図3～図8を同時に参照する。例えば、図3は図2の線3-3'から見た冷却チャンネルの位置を示す側面図である。反対側から見た、試料ブロック12の側面図は同一である。図4は図2の線4-4'から見た試料ブロック12のへりの側面図である。図5は図2の線5-5'から見た試料ブロック12のへりの側面図である。図6は図2の線6-6'に沿った試料ブロック12の断面図である。図7は図2の線7-7'に沿った試料ブロック12の断面図である。図8は図2の線8-8'に沿った試料ブロック12の断面図である。

【0040】試料ブロック12の上部表面は、66と68とで代表的に示した円錐形試料ウェルの8×12列が孔開けされている。各試料ウェルの円錐形の形状は図8に最もよく示されている。各試料ウェルのウェルは17°の角度で孔開けされていて、各試料管の円錐形部分の角度と合致している。これは図8において直径Dwを有するパイロット孔を孔開けすることによって形成される。次いで、17°のカウンターシンクを使用して円錐形壁67を形成する。

【0041】各試料ウェルの底は、試料管の先端の浸透深さを越える深さを有する溜70を含む。溜70はパイロット孔によりつくられ、そして試料管が対応する試料ウェルの中に配置されるとき、試料管より下に小さい開いた空間を提供する。この溜は、試料ウェルの壁への各試料管の緊密な嵌合を妨害せずに、液体、例えば、ウェル壁上に形成する凝縮物が存在するための空間を提供する。この緊密な嵌合は、ウェル壁から試料液体への熱伝導性を各試料管について均一かつ高くすることを保証するために必要である。1つの管についてゆるい嵌合を引き起こすウェル中の汚染は、列を横切る熱伝導性のこの均一性を破壊するであろう。すなわち、試料ウェル中の

試料管の嵌合に要する圧力では液体は実質的に圧縮されないので、溜70が存在しない場合、試料ウェルの底中に液体が存在するとその試料ウェル中の試料管は完全に嵌合できなくなることがある。さらに、溜70はある空間を提供し、この空間において、溜70の中に存在する液体の気相は高い温度のインキュベーションの間に膨張できるが、もし溜70が存在しない場合には膨張による大きい力が試料管に加えられて試料ウェルとの均一な接触から管が押し出されてしまう恐れがある。

【0042】実験から、各試料管はその対応する試料ウェルと均一に接觸することが重要であること、そしてある最小の限界の力を各試料管に加えて、試料ウェルの壁と反応混合物との間の熱伝導性を列を通じて均一に保持する必要があることが発見された。この最小の限界の嵌合力は、図15に力のベクトルFとして示されており、そして1つの試料管の壁を通る熱伝導率がブロック中のどこかに位置する他の試料管を通る熱伝導率と異なるのを防止するための、主要な因子である。最小の限界の嵌合力Fは30gであり、そして好ましい力のレベルは50~100gである。

【0043】試料ウェルの列は、図2、図6および図8において最もよく示されるように、2つの機能を有するみぞ78により実質的に完全に取り囲まれている。このみぞ78の主な機能は試料ブロックの中央区域からブロックのへりへの熱伝導を減少することである。みぞ78は試料ブロックの厚さの約2/3にわたって延設されている。このみぞは、支持ピン、マニホールドなどのブロックへの必要な機械的接続により引き起こされる、回避不可能な熱勾配の作用を最小とする。第2の機能は熱的質量を試料ブロック12から除去して、試料ブロック12の温度をより急速に変更可能とし、そして「ガードバンド」と呼ぶへり領域におけるウェルの列をシミュレートすることである。図2における点80および82の間のみぞ78の部分により除去される金属の量は、8つの試料ウェル83~90の隣接する列により除去される金属の量に実質的に等しいように設計される。この目的は、ガードバンドの熱的質量を隣接する以下に説明する「局所的ゾーン」、の熱的質量に合致させることである。

【0044】図3、図6および図8を参照すると、試料ブロック12の金属の中に形成された、種々のバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの数および相対的位置が示されている。9つのバイアス冷却チャンネル91~99が存在する。同様に、8つのランプ冷却チャンネル100~107が存在する。これらのバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの各々は試料ブロックのアルミニウムにガソル開けられる。ガソル孔開け法はよく知られており、試料ブロック12の底表面110の出来るだけ近くに長い非常に真っすぐな孔を開けることができる。ガソル孔開け法は真っすぐな孔を開けることができる。

この方法はバイアス冷却チャンネルまたはランプ冷却チャンネルが、孔開けの間にそれることおよび試料ブロックの底表面110を貫通することを防止したり、あるいは他の冷却チャンネルに対する相対的位置の変動を防止する上で好ましい。このような位置の誤差は、局所的ゾーンの「局所的バランス」または「局所的対称性」を覆すことによって、望ましくない温度勾配を引き起こすことがある。これらの概念は以下で説明するが、これらの概念と、この概念を実現する構造は、異なる試料ウェルの間のように過度の温度誤差をつくることで、96までの試料の急速な温度サイクリングを達成するために重要であることを理解すべきである。

【0045】バイアス冷却チャンネル91~99は、好ましい実施態様においてシリコーンゴムでライニングして、バイアス冷却チャンネルの壁を横切る熱伝達率を低下させる。バイアス冷却チャンネル中の壁を横切る熱伝達率を低下させることは、マルチゾーンヒータ156をオフにしそして試料ブロック12からの熱損失が主としてバイアス冷却チャンネルによるときに、試料ブロック12の急速過ぎる温度変化を防止する上で好ましい。これは、試料ブロックの温度が所望の標的インキュベーション温度よりわずかに上昇し、そして制御システムが試料ブロックの温度をユーザが特定したインキュベーション温度まで戻す場合の制御過程で生じる。「制御されたオーバーシュート」は以下に記載するように使用されているが、この場合における冷却速度が速すぎると、制御システムのサーボフィードバックループが応答することができる前に、所望のインキュベーション温度に対してオーバーシュートを引き起こすことがある。ブロック温度のサーボフィードバックループは外乱に対する応答の時定数を有するので、加熱および冷却の量および試料ブロックの生ずる温度変化速度を制御し、制御システムが温度誤差に対して応答できるより速い速度で、試料ブロックの温度を変化させないことによって、オーバーシュートを最小にすることが望ましい。

【0046】好ましい実施態様において、バイアス冷却チャンネルは直径4mmであり、そしてシリコーンゴムの管は1mmの内径および1.5mmの壁厚さを有する。これは、ブロックが作動上限温度、すなわち、約100°Cであるとき、ほぼ0.2°C/秒のバイアス冷却速度を与える、そして試料ブロック12が作動下限温度であるとき、ほぼ0.1°C/秒のバイアス冷却速度を与える。図1における冷却液制御システム24は、バイアス冷却チャンネル内に、ランプ冷却チャンネル100~107を通る冷却液の流速のほぼ1/20~1/30倍の冷却液の流速を生じさせる。バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルは同一サイズ、すなわち、4mmの直径であり、そして試料ブロック12全体にわたって延設されている。バイアス冷却チャンネルは、その端にフックをもつ剛性なワイヤをバイアス冷却チャンネルの中に

挿入しそしてそれを4mmよりわずかに大きい外径を有するシリコーンゴム管の端の孔を通してフッキングすることによってライニングされる。次いで、ワイヤ中のフッキングをシリコーンゴム管中の孔を通し、そしてシリコーンゴム管をバイアス冷却チャンネルを通して引き、そして試料ブロック12の端表面と同一平面になるように切断する。

【0047】ねじ孔108～114は、冷却液のマニホールドを試料ブロック12の各側にボルト止めするのに使用される。冷却液のマニホールドはブロックの両端にボルト止めされる。これらの2つのマニホールドを図1において冷却チャンネル26, 28, 30および31に連結され、マニホールドと試料ブロックの金属との間に挿入したガスケット材(図示せず)を介して試料ブロック12に取付けられている。このガスケットは冷却液の漏れを防止し、試料ブロック12とヒートシンクを代表するマニホールドとの間の熱伝導を制限する。前述の目的に合った任意のガスケットであれば本発明の実施のために十分である。

【0048】みぞ78の位置に対するバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの位置は、図6の断面図において最もよく示されている。試料ウェルの位置に対するバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの位置は、図8の断面図において最もよく示されている。バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルは、一般に、隣接した試料ウェルの先端の間の位置に介在する。さらに、図8から明らかなように、バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネル、例えば、チャンネル106および97は、1または2以上の試料ウェルの壁を貫通することなしには、図の正のZ方向に大きく外れることはできない。同様に、冷却チャンネルは、試料ブロック12の底表面116を貫通することなしには負のZ方向に大きく外れることはできない。明瞭のため、バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの、試料ウェルおよび他の構造物の位置に対する相対位置は図2に示されていない。しかしながら、試料ウェルのすべてのカラムの間にバイアス冷却チャンネルまたはランプ冷却チャンネルが存在する。

【0049】図2を参照すると、孔118, 119, 120および121にねじ山を形成し、そしてそれらの孔を使用して、試料ブロック12の中に形成する種々の孔およびみぞを機械加工するために使用する機械に試料ブロック12を取り付ける。図2、図4および図5において、孔124, 125, 126および127を使用して、以下に詳細に記載する、図9に示す支持ブラケットに試料ブロック12を取り付ける。鋼製のボルトはこの支持ブラケットを通してねじ孔124～127の中に延びて、試料ブロック12を機械的に支持する。これらの鋼製のボルトは、ヒートシンクまたはヒートソースになるとともに、熱的質量を試料ブロック12に付加し、そ

して試料ブロック12と周囲の環境との間の熱的エネルギーの移動のための付加的通路を提供する。これらの支持ピンおよびマニホールドは、これらの周辺構造体を通して伝達される熱的エネルギーが試料の温度に影響を与えるのを防止するためにガードバンドが必要となる2つの重要な因子である。図5を参照すると、孔128, 130および132は集積回路の温度センサー(図示せず)のための取り付け孔であり、この温度センサーは孔128を通して試料ブロックの中に挿入され、そしてねじ孔130および132へ締結されるボルトにより固定される。孔128の深さおよびみぞ78および試料ウェルの隣接する列との相対的位置は、図2に最もよく示されている。

【0050】図2を参照すると、孔134～143はスピルカラー147(図示せず)を取り付けるために使用する取り付け孔である。このスピルカラー147は図19に示されており、図19は加熱された定盤14、すべりカバー316および案内ねじアセンブリ312の構造を詳細に示す。スピルカラーの目的は、試料管からこぼれた液体が機器ケーシングの内側に侵入して腐食を生じることを防ぐことである。

【0051】図9を参照すると、試料ブロック12のための支持システムおよびマルチゾーンヒータ156の構造の断面図が示されている。試料ブロック12は4つのボルトにより支持され、それらをボルト146で代表して示している。これらの4つのボルトは鋼製支持ブラケット148の直立部材を貫通している。2つの大きいコイルばね150および152は、支持ブラケット148の水平部分と鋼製圧力板154との間で圧縮されている。ばね150および152は、試料ブロック12の底にフィルムヒータ156を圧着するために正のZ方向に約300ポンド/平方インチの力を供給するように十分に圧縮されている。この3層のフィルムヒータは、マルチゾーンフィルムヒータ156、シリコーンゴムのパッド158およびエポキシ樹脂フォームの層160から構成されている。好ましい実施例において、フィルムヒータ156は3つの別々の制御可能なゾーンを有する。フィルムヒータの目的は、図1においてCPU20の制御下に試料ブロック12に熱を供給することである。シリコーンゴムのパッドの目的は、フィルムヒータ層156から下の構造体への熱伝導率を低減することである。これらの下部構造体はヒートシンクおよびヒートソースとして働くため、これらの間で望ましくない熱エネルギーが試料ブロック12から出入りする可能性があるからである。シリコーンゴムのパッド158は、いくつかのフィルムヒータはニクロム線を有するため完全に平らではない場合があるので、フィルムヒータ156の表面の不規則性を補償するという追加の機能を有する。

【0052】鋼製板154およびエポキシ樹脂フォーム160の目的は、ばね150および152からの力をシ

リコーンゴムのパッド158およびマルチゾーンフィルムヒータ156に伝えて、フィルムヒータを出来るだけ試料ブロックの底表面に密着するように押圧することである。エポキシ樹脂フォームは剛性であって、ばねの力の下に破壊しないように剛性を有するとともに、すぐれた絶縁体であり、熱的質量が小さい、すなわち、密でない構造であるべきである。1つの実施例において、フォーム160は商標ECKOフォームで製造されている。他の実施態様において、他の構造体をシリコーンゴム層158および/またはエポキシ樹脂フォーム層160の代わりに使用することができる。例えば、剛性のハネカム構造体、例えば、航空機の構成に使用する構造体を圧力板154とフィルムヒータ156との間にそれらの間に絶縁層を配置させて使用することができる。層158および160のためにどんな構造体を使用しても、構造体は試料ブロック12が加熱されている間にそのブロックから多量の熱を吸収してはならず、そして試料ブロック12が冷却されている間に、そのブロックに多量の熱を与えてはならない。しかしながら、周囲構造体からのブロックの完全な隔離は事実上不可能である。試料ブロック12と接触して、試料ブロックを周囲から出来るだけ完全に隔離して、ブロック12の熱的質量を最小にし、かつ試料ブロックおよびその中に格納された試料混合物の急速な温度変化を可能とする、他の構造体を設計するための努力をすべきである。

【0053】試料ブロックの温度の正確な制御は、図9におけるマルチゾーンフィルムヒータ156により試料ブロックへ供給される熱の量を制御することによって、図1においてCPU20により達成される。フィルムヒータはパルス幅変調法の改良した方法を用いて駆動される。第1に、電力ラインからの120ボルトの波形を整流して、同一極性の半波のみを保存する。次いで、各半波部分をフィルムヒータの適当なゾーンに入力し、フィルムヒータの種々のゾーンへ加えられる各ハーフサイクルの割合をCPU20により制御する。

【0054】図10はフィルムヒータ156についての電力制御の概念の1つの実施例を示す。図10は供給ライン電圧の電圧波形図である。ネガティブハーフサイクル162を排除する整流が起こる。参照番号164で示すポジティブハーフサイクルのみが残る。次いで、CPU20およびその関連する周辺電子回路は、フィルムヒータ156の種々のゾーンへ加えられる各ハーフサイクルの部分を、各ゾーンについて下に記載する式に基づいて各ゾーンについて計算した電力レベルに従い、加える各ハーフサイクルの部分を選択することによって制御する。すなわち、図10の分割線166は、各ゾーンについて特別の式中の多数の因子に基づいて、フィルムヒータへの電力の量を制御するために時間軸に沿って前後に移動せしめられる。ポジティブハーフサイクル164の下の斜線区域は、分割線166の示した位置につい

てフィルムヒータ156へ加えられた電力を表す。分割線166が右に動くとき、より多くの電力がフィルムヒータへ加えられ、そして試料ブロック12はより高温になる。分割線が時間軸に沿って左に動くとき、斜線区域はより小さくなり、そしてより少ない電力がフィルムヒータに加えられる。CPU20およびその関連するソフトウェアおよび周辺回路がブロック12の温度を制御する方法を、より詳細に以下に記載する。

【0055】フィルムヒータへ供給される電力は、0から600ワットに連続的に変化させることができる。他の実施例において、フィルムヒータ156へ供給される電力は、他の方法、例えば、DCフィルムヒータを通る電流またはそれに加えられる電圧等のコンピュータ制御を使用して、あるいは下に記載するゼロ交差スイッチング法により制御することができる。他の実施態様において、試料ブロック12の加熱制御は、試料ブロック12の金属内に形成される加熱制御チャンネルを通して流される、高温気体または液体の流速および/または温度を制御することにより行うことができる。もちろん、このような他の実施例においては、ブロック中の試料ウェルの数を低減しなくてはならないであろう。なぜなら、図2～図8に示す試料ブロック12中には追加の加熱チャンネルのための余地が存在しないからである。このような他の実施例は、例えば、もしすべての他のウェルを除去して試料ブロック中に加熱チャンネルのための余地をつくるなら、96ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットに適合させることができる。これはこのようなマイクロタイタープレートの寸法に関してのみ適合するだけであり、96の異なる試料の同時処理に関しては適合しない。これらの他の実施例において局所的バランスおよび局所的対称性を保存するために注意しなくてはならない。

【0056】ここに記載する実施例において、フィルムヒータを経てブロックに供給できる最大の電力は1100ワットである。この制限はブロック/ヒータの接続部の熱伝導性から生ずる。実験において、フィルムヒータ156への約1100ワットより多い電力供給は装置の自己破壊をしばしば生じることが発見された。

【0057】ブロック温度を標的のインキュベーション温度またはその付近への加熱または冷却のための電力は、典型的には±50ワットの範囲内である。図11を参照すると、典型的なPCRプロトコルの時間対温度の関係が示されている。ブロック温度の大きい下向きの変化は、冷却された冷却液をランプ冷却チャンネルを通して入力すると同時に図1において温度センサー21により試料ブロックの温度をモニターすることによって達成される。典型的には、この急速な下向きの温度変化は、変性インキュベーション170とハイブリダイゼーションインキュベーション172の温度との間の温度変下時に行われる。典型的には、ユーザは、図の、傾斜温度線

のレグおよびインキュベーションのレグの間の円形の交差により示したチェックポイントの温度／時間の平面上の位置をCPU20に対して記述するために、1つの方法または他の方法において、温度および時間を定めることによってプロトコルを特定しなくてはならない。図に、インキュベーションのレグを参照数字170, 172および174で、ランプは参考番号176, 178および180でそれぞれ示している。一般に、インキュベーションの間隔は単一の温度において実施されるが、別の実施態様において、それらは含まれるPCRサイクルの特定の部分を実施するために許容されうる温度範囲内の異なる温度に段階的、あるいは連続的に変化するようになることができる。すなわち、変性インキュベーション170は図11に示すように1つの温度において実施する必要はないが、変性のために許容されうる温度範囲内の複数の異なる温度のいずれにおいても実施することができる。ある実施例においては、ユーザはランプセグメント176, 178および180の長さを指定することができる。他の実施例においては、ユーザは各インキュベーション間隔の1または2以上の温度および期間のみを指定することができ、装置は1つのインキュベーションの完了後他のインキュベーションの開始までの間に出来るだけ急速に試料ブロックの温度を変化させる。好みの実施例において、ユーザは、また、各サイクル毎に異なるか、あるいはすべてのサイクルについて自動的に増加する温度および／またはインキュベーション時間設定することができる。

【0058】95℃の変性インキュベーションから35℃のハイブリダイゼーションインキュベーションへの転移の間のランプ冷却の平均電力は、典型的には1キロワットより大きい。これは、ブロック温度が操作範囲の高い端にあるとき、ほぼ4～6℃／秒、そしてブロック温度が操作範囲の下限であるとき、ほぼ2℃／秒の試料ブロックの温度変化を生ずる。一般に、ランプ冷却のために出来るだけ高い冷却速度を有することが望ましい。

【0059】ランプ冷却の間に試料ブロックから非常に多くの熱が除去されるので、ランプ冷却チャンネルの1端から他端へ試料ブロックを横切る温度勾配が発生することがある。これを防止しつつこれらの型の温度勾配を最小にするために、ランプ冷却チャンネルは方向的に交錯している。すなわち、図3において、ランプ冷却チャンネル100, 102, 104および106を通る冷却液の流れの方向は、これらのランプ冷却チャンネルの孔の内側においてxで記号化されたように紙面の中へ向う。交錯するランプ冷却チャンネル101, 103, 105および107中のランプ冷却液の流れは、これらのランプ冷却チャンネルの孔の中心にある単一点により記号化されたように紙面から外に出る。この交錯+ランプ冷却チャンネルを通る高い流速は、そうでなければ非交錯の流れのパターンまたはより低い流速を使用した場合

に発生することがある温度勾配を最小にする。なぜなら、チャンネルの熱い端と冷たい端との間の距離がより短くなるからである。流速が遅いと熱のほとんどまたは全部が移動の最初の数インチのところでブロックから奪われることになる。これはブロックの入力側はブロックの出力側より低い温度になることを意味する。早い流速はチャンネルに沿った温度勾配を最小にする。交錯は1つの方向に走るチャンネルの熱い端が流れが反対方向となるチャンネルの複数の冷たい端間で「サンドイッチ」にされることを意味する。これはチャンネルの長さより短かい距離である。こうして、温度勾配を排除するために熱が移動しなくてはならない距離が縮少するので、温度勾配は減少する。これは、ランプチャンネル中の冷却により生じるいかなる温度勾配をも急速に解消する。交錯しないと、試料ブロックの1側は他側よりほぼ1℃熱いであろう。交錯は、ほぼ15秒未満のいかなる温度勾配をも消滅させる。

【0060】ブロックに添加またはそれから除去される熱量を推定するために、CPU20は図1の温度センサー21を使用してブロック温度を測定し、そして図1のバス54に連結された図46の温度センサー61により冷却液の温度を測定する。周囲空気の温度は、また、図1の温度センサー56により測定し、そしてバス52上でフィルムヒータに加えられる電力を制御する電力ラインの電圧は、また、測定する。試料ブロックから周囲、および試料ブロックから冷却液への熱伝導は、システムの制御パラメータをセットするために初期化プロセス中の測定結果としてCPU20へ知らされる。

【0061】試料集団の温度の均一性を良好にするために、ブロックは、定常温度にして、正味熱の流れを出入りさせない。しかしながら、熱いスポットから、ブロックの境界に関して正味熱の移動がゼロである冷たいスポットへ流れる熱の局所的流れにより生ずる温度勾配が試料ブロック内で起こることがある。例えば、1端で加熱されそして他端で冷却されるスラブ材は、ブロックへ流れる熱流がゼロである場合、定常の平均温度にある。しかしながら、この状態で、相当に不均一な温度、すなわち、温度勾配が、熱いへりから冷たいへりへ流れる熱流により、スラブ内で形成されることがある。ブロックのへりの加熱および冷却が停止されるとき、熱いへりから冷たいへりへ流れる熱流はこの温度勾配を結果的に消去し、そしてブロックは熱流開始時の熱い温度と冷たい温度との間の平均である均一な温度に達する。

【0062】長さLの断面区域Aのスラブが均一な熱伝導率Kを有しそして、熱源から入る熱流 Q_{in} が熱吸収部へ出る熱流 Q_{out} と一致することにより、スラブが定常平均温度に保持される場合、熱の流れから生ずる定常状態の温度プロファイルは、次の通りである：

$$(1) \Delta T = (Q_{in} \cdot L) / (A \cdot K)$$

ここで、

ΔT = 温度勾配、

L = 热通路の長さ、

A = 热通路の面積、

K = 热通路を通る热伝導率、である。

【0063】一般に、均一な热伝導性の物質内で、温度勾配は热の流れ／単位面積に比例する。こうして、热の流れと温度のばらつきは緊密にリンクされる。実際にには、热流を出入りさせないで試料ブロックの温度を制御することは不可能である。冷たいバイアス制御による冷却は、ストリップヒータからの多少の热の流入を必要とし、バイアス冷却チャンネルを流れる冷却液により除去される热のバランスを保ってブロック温度を安定な値に維持する。これらの条件下で試料ブロックの温度を均一にする键は、热源と热吸收部の「局所的バランス」と「局所的対称性」とを静的かつ動的に有し、そして熱いスポットから冷たいスポットへの热の流れが短い距離でのみ生じるように配置された幾何学配置にある。

【0064】簡単に述べると、「静的局所的バランス」の概念は、全热入力が全热出力に等しい定常温度のブロックにおいて、明確な局所的領域内で、すべての热源が热吸收部によりブロックを出入りする热の流れで完全にそのバランスを維持するように热源および热吸收部が配置されていることを意味する。したがって、各局所的領域は、隔離されると、定常温度に維持されるであろう。

「静的局所的対称」の概念は、局所的領域内で定常温度について、热源の質量中心が热吸收部の質量中心と一致することを意味する。そうでない場合、各局所的領域内で、各局所的領域にわたって温度勾配が生じ、これが隣接する局所的領域の温度勾配に加わり、これにより各局所的領域内の局所的バランスが保たれていても局所的対称性の欠如から单一の局所的領域の大きさの2倍の勾配が試料ブロックに生じる。局所的バランスおよび局所的対称性の概念は、試料ブロックの温度が、例えば、インキュベーションのインターバル中に、定常レベルに維持される静的温度バランスを達成するために重要である。

【0065】試料ブロック内で急速な温度変化が起こっている動的場合について、各局所的領域の热的質量または热容量は重要になる。なぜなら、各局所的領域にその温度を変化するために流入しなくてはならない热の量はその領域の热的質量に比例するからである。したがって、静的局所的バランスの概念は、局所的領域が热源およびヒートシンクとの合計のx%を含む場合には「動的局所的バランス」が存在するために热的質量のx%をも含むことを要件として、動的場合に敷衍できる。同様に、「動的局所的対称性」は、热容量の中心が動的热源および热吸收部の热的質量の中心と一致することを必要とする。簡単な用語でこれが意味することは、試料ブロックの热的質量がその金属であり、そして各局所的ゾーン内の金属の合計質量が同一であるように、試料ブロッ

クの機械加工が対称かつそのバランスがとれていることである。さらに、各局所的ゾーンにおける金属の質量中心は動的热源および热吸收部の質量中心と一致すべきである。こうして、マルチゾーンヒータ156の質量中心、すなわち、その幾何学的中心、およびバイアスならびにランプ冷却チャンネルの幾何学的中心は一致しなくてはならない。図2～図9の研究から、静的および動的の局所的バランスおよび局所的対称性の両者が試料ブロック12に存在することは、後述の説明から理解されるであろう。

【0066】図12は、本発明の教示に従う試料ブロック12の設計のため並列する2つの局所的領域を示す。図12において、2つの局所的領域200および202の境界は鎖線204、206および208で示されている。図12は、ガードバンドの中に存在しない各局所的領域が、次の構成成分から構成されていることを示す。すなわち、試料ウェルの2つの列；ヒータの合計面積の1/8倍であるフォイルヒータ156の部分；1つのランプ冷却チャンネル、例えば、ランプ冷却チャンネル210および212；および、1つのバイアス冷却チャンネルである。局所的対称性を保持するために、各局所的領域はそのランプ冷却チャンネル上に中心が存在し、そして各境界においてバイアス冷却チャンネル上で1/2を占める。例えば、局所的領域200はランプ冷却チャンネル210の上に中心を有し、そしてバイアス冷却チャンネル214および216は、それぞれ、局所的領域の境界204および206により区切られている。こうして、ランプ冷却チャンネルの質量中心（その中心）は、バイアス冷却チャンネルの質量中心（局所的領域の中心）および各局所的領域に連結するフィルムヒータ部分の質量中心と（水平に）一致する。CPU20がフィルムヒータ156を駆動して、ランプ冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルにより除去されている熱エネルギーの量に等しい熱エネルギーの量を入力するとき、静的局所的バランスが各局所的領域に保たれる。96の試料混合物が存在するブロックの中心部分の各局所的領域が全体の試料ブロックの総熱的質量のほぼ1/8を含み、ランプ冷却チャンネルの合計数の1/8を含みかつバイアス冷却チャンネルの合計数の1/8を含むので、各局所的領域について動的局所的バランスは保持される。各局所的領域の金属の質量中心が、局所的領域の下にあるフィルムヒータ部分の中心、ランプ冷却チャンネルの中心および、2つの1/2長のバイアス冷却チャンネルの質量中心と水平的に一致するので、動的局所的対称性は各線形回帰について成立する。

【0067】静的および動的局所的バランスおよび局所的対称性として特徴づけられるこれらの物理学的性質により、試料ブロックは、集団中のすべての試料を、先行技術の熱循環系より更にいっそう均一に加熱および冷却する。図2は、局所的領域の境界の平面図を鎖線217

～225により示す。図2から明らかなように、96の試料ウェルの中央領域は境界218～224により画された6つの隣接する領域に分割されている。さらに、2つのガードバンドおよび局所的領域が各へりに付加されている。最もネガティブのx座標を有するへりの局所的領域（局所的領域は時にはまた局所的ゾーンと呼ぶ）は、境界線217および218により画されている。最もポジティブのx座標を有するへりの局所的領域は、境界線224および225により画されている。各局所的領域は試料ウェルのカラムを含まないが、ウェルのカラムシミュレーションするみぞ78を含む。みぞ78の深さおよび幅は、ウェルのカラムと同一の金属質量を除去し、これにより動的局所的対称性を多少保持ように設計されている。したがって、へりの局所的ゾーンでは試料ブロックの中央部分における6つの局所的ゾーンと熱的質量が異なる（この領域は、また、外部の接続部材、例えば、マニホールドおよび支持ピンにより付加的熱的質量を有する）。この差は、へりの局所的ゾーンまたはガードバンドを前記マルチゾーンヒータの別々に制御可能なゾーンと共に加熱してブロックの中央ゾーンより多くのエネルギーをガードバンドへ送ることにより是正される。

【0068】ブロックの各へりにおける局所的領域は、6つの中央に位置する局所的領域の熱的性質と正確でないが略近似する。へりの局所的領域は、試料ブロック12の周辺の回りのガードバンドを完全にするので、「ガードバンド」領域と呼ぶ。このガードバンドの目的は、試料ブロック12に機械的に固定される支持ピン、マニホールド、ドリップカラーおよび他の装置等によってブロックへ機械的接続により本来的に埋め込まれる、制御されない熱吸収部および熱源から96の試料ウェルを含む試料ブロックの中央部分をある程度熱的に絶縁することである。例えば、図2において、試料ブロックのへりの表面228および230へ、ランプ冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルを出入りする冷却液を運ぶプラスチックのマニホールドを取り付ける。へり228および230に沿ったガードバンドは、へり228および230に対して並列かつそれに最も接近するスロット78の部分で構成する。みぞ78の深さは、みぞの底がバイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルの周辺に、それらを実際に交差させないで可能な限り密接するようにする。この深さに関係するみぞ78の幅は、図2の点82および232の間のスロット78により除去される金属の体積が、試料ウェル234で初まり試料ウェル83で終わる試料ウェルの隣接列により除去される金属の体積にほぼ等しいようにする。また、試料ウェルの周期的パターンがウェルの1つの列またはカラムにより各方向へ延びる場合には、試料ウェルのかゝる付加列が存在する所へブロックの回りのスロット78を設置する。

【0069】支持接続部が試料ブロックに形成されているへり250および252に沿って、ガードバンドの局所的領域は、スロット78の一部に加えて、いくつかの冷却チャンネルの全長を含む。図3を参照すると、上記ガードバンドの局所的領域は次のものを含む：隣接する局所的領域の隣接する1/2のバイアス冷却チャンネルと共に全長のバイアス冷却チャンネルを形成するバイアス冷却チャンネルの1/2（例えば、92）；ランプ冷却チャンネル（例えば、100）；および全長のバイアス冷却チャンネル（例えば、91）。へり250のへりの局所的領域として、これらの冷却チャンネルは107、1198および99で示されている。ガードバンドにおける全長のバイアス冷却チャンネルは、ブロックのへりから内方にわずかに変位している。これらの全長のバイアス冷却チャンネルを使用する理由は、「半分の」冷却チャンネルの構成が実際的ではないことである。バイアス冷却チャンネルはこのような厚い壁をもつゴムのライニングを必要とするので、「半分の」バイアス冷却チャンネルのライニングを通る孔を信頼性をもって開放しておくことは困難であろう。へりの局所的領域におけるこの非対称性はへりのガードバンドの局所的領域から冷却液へ熱の小さい過剰損失を引き起こすが、それは試料ウェルを含む試料ブロックの中央領域から十分に離れているので、試料温度の不均一性への寄与は小さい。また、この小さい非対称性の温度の影響を予測できるので、この作用は各ガードバンドの下でマルチゾーンヒータシステムの分離制御可能ゾーンを使用することによってさらに最小にできる。

【0070】図13を参照すると、図9のフィルムヒータ層156内で別々に制御される3つのゾーンが存在する。これらの別々に制御されるゾーンは、支持ブレケット148に連結される試料ブロック12の露出したへりでガードバンドの下に位置する、へりのヒータのゾーンを含む。ここには、また、冷却液のマニホールドに取り付けられるへり228および230のためにガードバンドの下に位置する、別々に制御されるマニホールドのヒータゾーンが存在する。最後に、試料ウェルの下には中央ヒータゾーンが存在する。これらのゾーンの各々に加えられる電力は、CPU20および制御ソフトウェアにより別々に制御される。フィルムヒータ156は、金属合金、例えば、インコネル（登録商標）の薄い板をエッチングすることによって形成された、導電体のパターンから構成される。選択される金属合金は、高い電気抵抗および良好な耐熱性を有すべきである。そのようにエッチングされた導電体のパターンは、電気絶縁性ポリマー材料、例えば、カブトン（登録商標）の薄いシート間に結合される。電気抵抗加熱要素を絶縁するためにいかなる材料が使用されても、この材料は高温に対する抵抗、高い静電強さおよび良好な機械的安定性をもつものでなければならない。

【0071】フィルムヒータの中央ゾーン254は、ガードバンドの内側の試料ブロックの中央部分とほぼ同一の寸法を有する。中央部分254は均一な電力密度を試料ウェル区域に供給する。ヘリヒータ領域256および258は、ヘリガードバンドとほぼ同一の幅を有するが、それほど長くない。マニホールドのヒータ領域260および262は、図2のヘリ228および230についてのガードバンドの下に横たわる。マニホールドのヒータゾーン260および262は、電気的に一緒に接続して、1つの別々に制御可能なヒータゾーンを形成する。また、ヘリヒータ区画256および258は電気的に一緒に連結して、第2の別々に制御可能なヒータゾーンを形成する。第3の別々に制御可能なヒータゾーンは中央区画254である。これらの3つの別々に制御可能なヒータゾーンの各々は別の電気リード線を有し、そして各ゾーンは別のマイクロプロセッサまたは好ましい実施態様において実施されるような共有のCPU20で実行することができる、別の制御アルゴリズムにより制御される。

【0072】支持ブラケットへの熱損失を補償するためにヘリヒータゾーン256および258を駆動させる。この熱損失は、試料ブロック12とそれを取り囲む周囲空気との間の温度差に比例する。ヘリヒータゾーン256および258は、また、試料ブロックからブロックの各ヘリにおける完全なバイアス冷却チャンネルへの過剰の熱損失を補償する。この熱損失は、試料ブロック12とこれらのバイアス冷却チャンネルを通して流れる冷却液との間の温度差に比例する。マニホールドのヒータ区画260および262は、また、試料ブロック12のヘリに取り付けられた、図13のプラスチックの冷却液マニホールド266および268への熱損失を補償するために駆動する。マニホールドのヒータ区画260および262のための電力は、試料ブロックと冷却液との間の温度差に主として比例し、かつ試料ブロックと周囲空気との間の温度差に若干比例する熱損失を補償する。

【0073】実際的理由で、中央のヒータ区画254の上に横たわる試料ウェルを包む局所的領域の熱的質量と、ガードバンドの局所的領域の熱的質量と合致させることは不可能である。例えば、プラスチックの冷却液マニホールド266および268はガードバンドから離れる方向に熱を伝えるばかりでなく、ある量の熱的質量をそれらが取り付けられたガードバンドの局所的領域にも加える。その結果、急速なブロックの温度変化の間に、ガードバンドの温度の上下速度は試料ウェルの局所的領域のそれに正確に合致しない。これはガードバンドと試料ウェルとの間の動的温度勾配を発生させ、これが大きくなると、許容できないほど長時間持続することになる。この温度勾配の作用は、ブロック温度の変化速度におおよそ比例し、そしてブロック温度の変化速度に比例する速度で各ガードバンドの局所的ゾーンから熱を付加

または除去することによって最小にされる。

【0074】ガードバンドのゾーンヒータの比例係数は、その装置の設計の比較的安定な性質であり、プロトタイプについての工学的測定値により決定される。比例係数についての値は、方程式(3)～(5)の項の定義と関係して下に記載する。これらの方程式は、別の実施態様における、それぞれ、マニホールドヒータゾーン、ヒータゾーンのヘリおよび中央ゾーンに加えられる電力の量を決定する。好ましい実施態様において使用する方程式は、ソフトウェア(方程式(46)～(48)、区域ごとに分配される電力)の説明において下に記載する。

$$(3) P_m = A_m P + K_{M1} (T_{BLK} - T_{AMB}) + K_{M2} (T_{BLK} - T_{COOL}) + K_{M3} (d t_{BLK} / d t)$$

ここで、

P_m = マニホールドヒータゾーン260および262に供給された電力、

A_m = マニホールドヒータゾーンの領域

P = ブロック温度をPCR熱サイクルのプロトコルにおいて任意の特定の時間で所望の温度に停止させるか、あるいは移動させるために必要な電力、

K_{M1} = 0ワット/°Kに等しい、マニホールドを通る周囲への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{M2} = 0.4ワット/°Kに等しい、冷却液への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{M3} = 66.6ワット・秒/°Kに等しい、プラスチックのマニホールドなどにより引き起こされるマニホールドのヘリのガードバンドの追加の熱的質量を補償するための余分の電力を提供する実験的に決定した比例定数、

T_{BLK} = 試料ブロック12の温度、

T_{AMB} = 周囲空気の温度、

T_{COOL} = 冷却液の温度、

$d t_{BLK} / d t$ = 試料ブロックの温度変化/単位時間、

$$(4) P_E = A_E P + K_{E1} (T_{BLK} - T_{AMB}) + K_{E2} (T_{BLK} - T_{COOL}) + K_{E3} (d t_{BLK} / d t)$$

ここで、

P_E = ヘリヒータゾーンに加えるべき電力、

A_E = ヘリヒータゾーンの領域、

K_{E1} = 0.5ワット/°Kに等しい、マニホールドを通る周囲への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{E2} = 0.15ワット/°Kに等しい、冷却液への過剰の熱損失を補償するために実験的に決定した比例定数、

K_{E3} = 15.4ワット・秒/°Kに等しい、支持ピンおよびブラケット、温度センサーなどへの試料ブロック12の取り付けにより引き起こされる露出されたガードバンドの追加の熱的質量を補償するための余分の電力を提供する実験的に決定した比例定数、

$$(5) P_c = A_c P$$

ここで、

P_c = マルチゾーンヒータの中央ゾーン254に加えるべき電力、

A_c = 中央ゾーン254の領域。

【0075】方程式(3)～(5)の各々において、電力Pは変数であり、これは図1においてCPU20により実行される制御アルゴリズムの部分により計算され、この部分はユーザが定めた設定点を読みそして、次に、ユーザが記憶装置に記憶させた時間および温度の設定点により定められるPCR温度のプロトコルを実行するために試料ブロック温度を適切な温度で維持するか、あるいはそれに合致させるために何を実施するかを決定する。設定点を読みそして電力密度を計算する方法は、下に詳細に記載する。

【0076】図1のCPU20により実行される制御アルゴリズムは、図1および図9の温度センサー21および図1のバス52を経て、試料ブロックの温度を感知する。この温度を変化させて、試料ブロック12の温度変化速度を誘導する。次いで、CPUは図1の温度センサー56を経て周囲空気の温度を測定し、そして図46に示す冷却液制御システム24中の温度センサー61を経て冷却液の温度を測定する。次いで、CPU20は実行されているPCRプロトコルの特定のセグメントに相当する電力ファクターを算定し、かつ方程式(3)、

(4) および(5)に従い、測定した温度、比例定数

(これらは持久記憶装置に保存される)、制御プログラムと種々のヒータゾーンの区域との特定相互作用についての電力ファクターP(これらは持久記憶装置に保存される)をすべて代入して3つの計算をする。電力ファクターは、ブロック温度をその電流レベルから、設定点を経てユーザが特定した温度レベルに動かすために必要な合計電力である。加熱および冷却を制御するためにCPUが実行する計算についての詳細は、制御ソフトウェア「PIDタスク」の説明において下に記載する。

【0077】ヒータ156の3つのゾーンの各に加えるために必要とされる電力を計算した後、いくつかの実施態様において各ゾーンへ加えるべき入力電力の各ハーフサイクルの比率に関する、他の計算を行う。下に記載する好ましい実施態様において、計算のモードは、200ミリ秒の試料期間の間に生じるハーフサイクルの合計数のうちのどれだけのハーフサイクルを各ゾーンに加えるべきかである。このプロセスは、図47Aおよび図47B(以下、図47と言う)、および制御ソフトウェアの「PIDタスク」の説明に関して下に記載する。図10に示す別の実施態様において、コンピュータは各ゾーンについて図10における分割線166の位置を計算する。この計算を実行した後、適当な制御信号を発生して、マルチゾーンヒータ156に電力を供給し、適当にスイッチを転換させて、計算量の電力を各ゾーンに加えるようにする。

【0078】他の実施態様において、全体の試料ブロックに均一な電力密度を供給する単一のフィルムヒータ、およびガードバンドについて個々に単一のゾーンをもつ1または2つのフィルムヒータを付加的に使用して、マルチゾーンヒータを実行させることができる。これらの追加のヒータは、全体の試料ブロックをカバーする単一のフィルムヒータの上に重ねる。このような実施態様において、ガードバンドの損失の構成に必要な電力のみを追加のヒータゾーンに加える。方程式(3)～(5)における電力ファクターPは、ユーザが特定した設定点およびランプ時間に基づくPCR温度プロトコル上の種々の点についてCPU20により計算される。しかしながら、前述のゾーンヒータの最大の電力供給能力に基づく制限がある。方程式(3)～(5)中の比例定数は、良好な温度の均一性のためのガードバンドにおける過剰の熱損失を適切に補償するために、適切にセットされなければならない。

【0079】図17は、試料ブロックの温度を実質的に低い温度からほぼ94°Cの変性インキュベーションの標的温度に向けて上昇させるために、ブロック温度の段階的变化に応答して複数の異なる試料について計算した試料温度の間の差を表すグラフを示す。図17は、マルチゾーンヒータ156が方程式(3)～(5)の項で定義された前述の比例定数を使用して適切に管理されたときの計算された試料液体温度を示す。図17のグラフを誘導するために使用した種々のウェルは、単一の文字および数の組み合わせにより示されている。図2を表す8×12のウェル列は、文字を付したカラムおよび番号を付した列によりコード化される。こうして、例えば、試料ウェル90はまた試料ウェルA12と表示され、試料ウェル89はまた試料ウェルB12と表示される。同様に、試料ウェル68は試料ウェルD6などと表示される。ここに記載された全熱的設計は温度勾配を除去することから、ウェル温度は互いのほぼ0.5°C範囲内の温度に漸近的に落ちることが理解されるであろう。

【0080】上記説明は試料ブロックの温度がどのようにして均一に制御され、そして急激に変化せしめられるかを示したものである。しかしながら、PCRプロセスにおいて、プログラミングすべきであるのは試料反応混合物の温度であって、試料ブロックの温度ではない。本発明の教示に従う好ましい実施態様において、ユーザは試料液体それ自体についての一連の標的温度を特定し、そしてPCRプロセスにおける各段階におけるこれらの標的温度の各々における試料液体のためのインキュベーション(定温放置)時間を特定する。そこで、CPU20は試料ブロックの温度を管理して試料の反応混合物を特定された標的温度にし、そして試料混合物をそれらの標的温度に特定したインキュベーション時間の間保持する。CPU20により実行されるユーザのインターフェースのコードは、このプロセスのすべての段階において、

端末16のディスプレー上に現在の計算した試料液体の温度を表示する。

【0081】反応混合物の実際の温度の測定は温度測定プローブをその中に挿入することを必要とするので、実際の測定した試料温度を表示するのは困難である。プローブの熱量はそれを配置したウェルの温度をかなり変えることがある。なぜなら、あらゆるウェル中の試料の反応混合物の体積は多くの場合に $100\mu l$ ほどであるからである。こうして、反応混合物の中への温度プローブの単なる挿入は、反応混合物と付近の混合物との間に温度勾配を生じさせる。温度センサーの余分な熱量はそれを浸漬した反応混合物の温度を、他のウェル中の小さい熱量を有する反応混合物の温度から、低下させて、温度を測定しようと試みるだけで大きな誤差が生じる。

【0082】したがって、ここに説明する装置は、既知の因子、例えば、ブロック温度の履歴およびシステムの熱的時間の定数から試料温度を計算し、そしてディスプレー上に試料温度を表示する。ここで説明する装置では、試料管を試料ウェルの中に少なくとも最小の限界力Fで下に押すと、好ましい実施態様において使用した試料管の大きさおよび形状およびほぼ $100\mu l$ の試料体積について、試料の反応混合物内で熱の対流が起こり、そしてこの装置は単一の時定数の直線のシステムのように熱的に作用することが、実験的に発見された。実験によれば、すぐれたウェル壁対流体の熱伝導性を得るためにウェル毎に各試料管をほぼ $50g$ の力で押し下げなくてはならないことが分った。後述の加熱された定盤は各試料管を約 $100g$ の力で押し下げるよう設計されたものである。図15に力ベクトルFで示されたこの最小の力は、種々の試料間や試料ブロック内の種々の試料ウェルにわずかな外形寸法の差がある無しにかかわらず、各試料管が均一な熱伝導性を保証されるようにすべての試料管がきちんと同一面上で嵌まるように十分な力で押し下げされることを確保するために必要である。対応する試料ウェルに対してゆるく嵌合される試料管およびきつく嵌合される試料管を有する設計は、熱伝導性が不均一であるために、すべての試料管について厳密な温度制御を達成することができないであろう。不十分なレベルの力Fは、試料ブロックの温度のステップ状変化に対する試料液体の温度の応答が図14に286で示すようなものになる結果となる。適切なレベルの力Fは282に示す温度の応答を生ずるようになる。

【0083】本発明の教示に従い構成された装置により達成される結果は、各試料混合物の温度が新しい温度へ転移する間に、あたかも試料が物理的によく混合されるように試料混合が挙動することである。事実、各試料混合物の中に引き起こされた対流のために、各試料管中の試料の反応混合物はよく混合される。驚くべき結果は、全体のシステムの熱的挙動が、ブロック温度と試料温度との間の差の減衰の半減期の約1.44倍である9秒の

单一の時定数をもつ電気RC回路に似るということである。50mlの試料を充填したジェネアンプ（登録商標）の試料管は、約23秒の時定数を有する。換言すると、試料ブロックの温度の上向きの変化の間、反応混合物の温度は、図16(D)に示すような電源Vの電圧出力のステップ状変化に応答する、直列のRC電気回路中のコンデンサCの電圧の上昇に似たように作用する。

【0084】これらの概念を説明するために、ブロック温度のステップ状変化に対する試料液体の異なる応答を示す図14および試料ウェル／試料管の組み合わせを通る断面を示す図15を参照する。実験において、試料液体276の体積がほぼ $100\mu l$ であり、そしてメニスカス278が試料ブロック12の上部表面280より下に位置するような寸法を試料管がもち、そして試料管を試料ウェルの中に押し下げる力Fが少なくとも $30g$ であるとき、図15に示す装置の熱的時定数τ(タウ)は、試料管の円錐形区画における試料管壁厚が0.009インチ(0.23mm)(寸法A)の場合にほぼ9秒であることが分った。また、実験において、上記条件について、熱的時定数τは試料管の円錐形区画の壁厚が0.001インチ変る毎に約1秒変化することが分った。ここで述べる壁の薄い試料管は、20から $100\mu l$ の試料を収容するもので約5から14秒の熱的時定数を有することがわかっている。試料管の壁が大きいほど、時定数は大きくなり、試料ブロックの温度の変化と試料液体温度の変化との間の遅れが大きくなることが分った。

【0085】数学的に、試料ブロックの温度変化に対する試料液体温度の熱的応答の関係は次の式で表わされる。

$$(6) \quad T_{sample} = \Delta T (1 - e^{-t/\tau})$$

ここで、

T_{sample} = 試料液体の温度、

ΔT = 試料ブロック12の温度と試料液体の温度との間の温度差、

t = 経過時間、

τ = 装置の熱的時定数、または試料ウェルの壁から試料液体への熱伝導性で割った試料の熱容量。

【0086】図14において、曲線282は、試料管を押し下げる力Fが十分に高いとき、試料ブロック温度の理論的ステップ状変化に対する指數関数的な温度の応答を表す。試料ブロックの温度のステップ状変化は関数284として示されており、時間T1において開始する温度の急速な上昇が存在する。留意すべきは試料液体の温度はステップ状変化に応答して指數関数的に増加し、そして最終の試料ブロック温度に漸近的に近付く様子である。簡単に前述したように、曲線286は、図15における下向きの配置力Fが試料管の円錐形区画と試料ウェルの壁290との間のきちんとした同一面上の配置をもたらすのに不十分であるときの、熱的応答を表す。一般

に、力Fが30gより小さい場合、曲線286の熱的応答は生ずるであろう。図15は明瞭のために試料管の円錐形区画と試料ウェルの壁との間に空気の小さい層があるように示されているが、正確にはその反対とするのが望ましい。というのは、空気はすぐれた断熱材であり、そして装置の熱的時定数を実質的に増加するであろうからである。

【0087】熱的時定数 τ は直列のRC回路におけるRC時定数に類似し、ここでRは試料ウェルの壁と試料液体との間の熱的抵抗に相当し、そしてCは試料液体の熱容量に相当する。熱的抵抗は、単位ワット/秒/ $^{\circ}$ Kで表される熱伝導性の逆数である。図15において試料液体の中に示す対流の流れ292のために、反応混合物中のすべての場所で、試料液体はほとんど同一温度に近くになり、そして試料ブロックと試料との間の熱の流れは試料ブロックと試料の反応混合物との間の温度差に非常に密接に比例する。比例定数は、試料ブロック12中の試料ウェルの壁と反応混合物との間の熱伝導性である。異なる試料体積または異なる試料管、すなわち、異なる壁厚または材料について、熱的時定数は異なる。このような場合において、ユーザはPCRプロトコルの仕様の一部分として、試料の体積または試料管のタイプを入力することができ、すると、装置は試料温度の計算に使用するために正しい熱的時定数を自動的に求めるであろう。ある実施態様において、ユーザは実際の時定数を入れることができ、そして装置は試料温度の温度の計算にそれを使用するであろう。

【0088】熱的時定数を出来るだけ小さく保持するために、試料管の円錐形壁は出来るだけ薄くあるべきである。好ましい実施態様において、これらの円錐形壁は0.009インチ(0.23mm)の厚さであるが、試料管の円筒形部分の壁は0.030(0.76mm)の厚さである。試料管の円錐形の形状は、試料混合物の体積に関して、試料ウェルの壁の金属との接触表面積を比較的大きくする。試料管の成形は、4つの試料管が各射出で成形されるような、「常温ランナー」システムおよび4つのキャビティを使用して実施される。溶融プラスチックは試料管の円錐形区画の先端部に位置する部分から射出され、残余のプラスチックが試料管の先端と試料ウェルの先端との間のキャビティ291の中に突出するようになる。これは残余のプラスチックが試料管とウェルとの間の同一面配置を妨げるので防止する。残余プラスチックの大きさは0.030インチ(0.76mm)を最大とする。

【0089】種々の実施態様において、各々が異なる利点をもつ3つの異なる等級のポリプロピレンを使用できる。好ましいポリプロピレンはヒモント(Himont)からのPD701である。なぜなら、それはオートクレーブ処理可能であるからである。しかしながら、このプラスチックは低いメルトイインデックスをもつので、

成形が困難である。このプラスチックは35のメルトイインデックスおよび9の分子密度を有する。PD701はばかりを残す傾向があり、そして多少斑点がある品質の部分をつくるが、現在実施されているように円錐形区画の先端における代わりに、成形物の厚い壁の部分に射出成形した場合、よりよく働く。一般に、成形容易のために高いメルトイインデックスを有するが、すぐれた強さを維持しあつ260 $^{\circ}$ Kにおけるオートクレーブ処理の熱应力の下でひび割れまたは割れを防止するために、また、高い分子密度を有することが望ましい。他のプラスチック、アメリカン・ヘスヒト(American Hoechst)からのPPW1780は、75のメルトイインデックスおよび9の分子密度を有し、そしてオートクレーブ処理可能である。ある実施態様において使用できる他のプラスチックはヒモント(Himont)444である。このプラスチックはオートクレーブ処理可能ではなく、そして他の方法で滅菌することが必要である。

【0090】他の実施態様において、試料管は、溶融プラスチックの温度が型のちょうどゲートまで制御される「ホットランナー」または「ホットノズル」システムを使用して成形できる。また、ある実施態様において、多数のゲートを使用できる。しかしながら、これらの技術のいずれも、充填の時間において、現在使用する「常温ランナー」システムよりすぐれるとは言えないことが実験的に証明された。本発明の装置が単一の時定数のRC回路のように熱的に作用するという事実は重要なことである。なぜなら、試料ブロックから試料の反応混合物への熱伝導性が既知でありかつ均一であるとすると、上記事実は試料混合物の熱的応答が既知でありかつ均一であることを意味するからである。試料の反応混合物の熱容量は既知でありかつ一定であるので、試料の反応混合物の温度は試料ブロック温度の経時的に測定した履歴のみを使用して正確に計算することができる。これは試料温度を測定する必要性を排除し、これにより無視できない熱量をもつプローブを試料ウェルの中に入れて試料温度を直接測定し、これによりプローブを挿入したウェル中の試料の熱量を変化させる誤差および困難を排除する。

【0091】この計算を行うアルゴリズムは、単一の時定数の直列のRC電気回路にちなんで装置の熱的挙動をモデル化したものである。このモデルは、液体試料の熱容量と試料ブロックから試料の反応混合物への熱伝導性の比を使用する。試料の反応混合物の熱容量は、低い比熱×液体の質量に等しい。熱的抵抗は1/試料ブロックから試料管壁を通る液体反応混合物への熱伝導性に等しい。熱容量/熱伝導性の比は一致した単位で表すとき、それは時間の次元を有する。試料の体積および試料の組成が一定であってすべての試料ウェルにおいて同一であり、および熱伝導性が一定であると、上記比はすべての試料ウェルについても一定であり、そして装置の熱的時定数と呼ばれる。それは、ブロック温度の急激なステッ

ブ状の変化後、試料温度がブロック温度の36.8%以内に来るためには要する時間である。

【0092】装置のインパルス応答が知られている場合、フィルターまたは他の直線システムの出力応答を計算することができるという、電子回路の分析において使用される数学的理論が存在する。このインパルス応答は、また、伝達関数として知られている。直列RC回路の場合において、インパルス応答は図16(A)に示すように指数関数である。図16(A)の応答を生ずるインパルスの刺激は図16(B)に示されている通りである。この数学的理論では、このような直線のシステムの出力応答は入力信号のたたみ込みおよび重み関数を計算することによって決定することができるとされており、ここで重み関数は時間を逆転したシステムのインパルス応答である。たたみ込みは別名連続加重平均として知られている。ただし、たたみ込みは無限に小さい階段状の大きさをもつ微分積分学における概念であるが、連続加重平均は離散的な階段状の大きさ、すなわち、多数の試料を有する。図16(D)に示す直列RC回路のインパルス応答は次のようなものである。すなわち、電圧発生器Vの電圧が図16(B)に示すような電圧のスパイクで急激に上下するとき、コンデンサーCの電圧は図16(A)においてピーク294に急激に上昇し、このピークは図16(B)に示すインパルスのピーク電圧に等しく、次いで指数関数的に減衰して定常状態の電圧V₁に戻る。生ずる重み関数は、図16(C)において385で示されるように、図16(A)のインパルス応答の時間を逆転したものである。

【0093】図16(C)には、試料ブロック12の凡そのステップ状の温度変化を示す典型的な温度履歴を示す仮定の曲線387が示されている。また、図16(C)には、5つのサンプリング時間T₁～T₅が示されている。本発明の教示に従い、試料温度は、これらの時間T₁～T₅の各々における温度とその特定の時間における重み関数の値を掛け、次いですべてのそれらの積を合計し、そして5で割ることによって、計算される。熱的システムが单一の時定数の直線回路のように作用するという事実は、この複雑な熱的システムについての熱伝達の考慮の複雑さを見て、驚くべき結果である。

【0094】1つの実施態様において、試料温度の計算は、ブロック温度センサーおよび試料液体への異なる熱的通路長さにより引き起こされる輸送遅れを説明する短い遅延により調節される。計算した試料温度は、図1に示す端末16上のユーザの情報のために表示される。図17は、96ウェルの試料ブロックの中に散在する6つの異なるウェルについて、ハイブリダイゼーション/伸長温度範囲における比較的低い温度から変性のためのほぼ96°Cの比較的高い温度への試料ブロック温度のステップ状変化の際の温度応答の結果を示している。図17のグラフは、システムが図16(D)に示す直列RC回

路に完全に類似する場合には試料温度が予測された指数関数的な上昇と一致することを示しており、そしてまた、ここでこの研究において使用した6つの試料ウェルが互いに非常に密接した漸近的な温度で且つ変性温度の許容範囲である0.5°Cの範囲内の温度に設定された場合においてきわめてすぐれた温度応答の均一性が存在することを示している。

【0095】1つの実施態様においては10個の最も最近のブロック温度の試料が連続加重平均について使用されたが、他の実施態様においては異なる数の温度履歴試料を使用することができる。理論的に予測された結果とのすぐれた一致は、熱的対流の流れが試料液体をよく混合し、これによりこのシステムを直線的特徴で作用させるという事実から由来する。96ウェルの試料ブロックの中に散在する種々のウェルの試料温度間の均一性は、試料ブロック構造における動力学的および静力学的局所的バランスおよび局所的対称性ならびにここに詳細に記載する他の熱的設計因子から生ずる。しかしながら、ユーザが各試料ウェルに同一質量の試料液体を注意深く入れる場合にのみ、急速な温度変化の間にすべての試料ウェルは互いに0.5°C以内の温度を有するであろうことに注意すべきである。異なるウェルにおいて質量が等しくないとき、条件の変化のない定常状態では温度の不均一さではなく、温度の変動は急速な変化の間ににおいてのみ生じる。各ウェル中の試料液体の質量は、各試料の熱容量の決定において主要な因子であり、したがって、その特定の試料ウェルについて熱的時定数についても主要な因子である。

【0096】留意すべきは、すべての試料ウェル中の試料液体を同時に上の温度又は下の温度に周期的に変化させ、そして標的温度に対して互いに非常に接近した、すなわち、わずかに0.5°Cの幅である許容範囲内の温度で安定化させる能力は、図15における力Fに依存することである。この力Fは、同様な質量の試料液体を充填したすべての試料ウェルの熱的時定数が同一の熱的時定数を有する前に、最小の限界値を越えるものでなければならない。最小の限界値は、ここに記載する試料管および試料ウェルの形状について30gであることが実験的に決定された。より高いレベルの精度について、図15における最小の限界の力Fは、前述したように安全性の追加の限界について少なくとも50g、好ましくは少なくとも100gであることが確立された。

【0097】試料ウェルの温度の熱的均一性の重要性は、図18を参照すると理解することができる。この図面は、DNAのある種のセグメントの増幅の1つの例についての、PCRサイクルにおいて発生したDNAの量と変性間隔の間の実際の試料温度との間の関係を示す。93°Cおよび95°Cの温度の間の関数298の傾斜は、この特定のDNAのセグメントおよびプライマーについてほぼ8%/°Cである。図18は増幅により発生したD

NAの量に関する曲線の一般的な形状を示すが、この曲線の形状の詳細はプライマーおよびDNA標的の各異なる場合とともに変化する。97°C以上の変性のための温度は一般に熱すぎ、そして増加する変性温度が上昇すると増幅が減少する結果になる。95°Cおよび97°Cの間の温度は一般にちょうど正しい。図18が例示するように、ほぼ93°Cの変性温度で安定化するこの特定のDNA標的およびプライマーの組み合わせを含有する試料ウェルは、94°Cで変性したウェルより8%少ない典型的なPCRプロトコルの過程で発生したDNAを有するように思われる。同様に、95°Cの変性温度で安定化するこの混合物の試料液体は、94°Cの変性温度で安定化する試料ウェル中で発生したより8%多いその中で発生したDNAを有するように思われる。この性質のすべての曲線は同一の一般形状を有するので、試料温度の均一性を有することは重要である。

【0098】前述したようにして計算した試料温度は、ヒータおよびランプ冷却チャンネルを通る流れを制御し、そして種々の標的温度に試料が保持されるべき間の長さを決定する制御アルゴリズムにより使用される。制御アルゴリズムは、これらの時間を使用して、ユーザを入れた各インキュベーション期間についての所望の時間と比較する。時間が合致するとき、制御アルゴリズムは次のインキュベーションについてユーザが定めた標的温度に向かって試料ブロックを加熱または冷却するために適当な処置を取る。計算した試料温度は設定点、すなわち、ユーザがプログラミングしたインキュベーション温度の1°C内であるとき、制御プログラムはタイマを始動させる。このタイマはある数をカウントダウンするようになど設定され、この数は実施されるインキュベーションのためにユーザによって特定された時間間隔をタイムアウトするように設定される。計算した試料温度が1°C内にあるとき、タイマは始動してプリセットしたカウントからカウントダウンする。タイマがゼロカウントに到達するとき、信号は活性化され、これによりCPUはPCRプロトコルの次のセグメントを実行する作用をする。本発明を実施するために特定の間隔の時間を定める測定するあらゆる方法を採用できる。

【0099】典型的には、許容範囲は特定の標的温度±0.5°Cの範囲である。いったん標的温度に到達すると、コンピュータはバイアス冷却チャンネルおよびフィルムヒータを使用して試料ブロックを標的温度に保持し、こうしてすべての試料は特定した時間間隔だけ標的温度の近くに維持される。ここに記載する作用の優れた熱的システムについては、試料ブロックから各試料への熱伝導性は既知であり、そして非常に密接な許容範囲内で均一である。そうでなければ、タイマが始動するとき、すべての試料は標的温度の特定した許容範囲内にあるわけではなく、そしてすべての試料が標的温度において同一のインキュベーション間隔を経験するわけではなく

い。また、この熱的システムがよく働くためには、すべての試料管は周囲環境における変動から隔離しなくてはならない。すなわち、ある試料管をドラフトにより冷却し、一方物理的に異なる位置における他の試料管が同一冷却作用を経験しないようにすることは望ましくない。すぐれた均一性について、すべての試料の温度を試料ブロックの温度によってのみ決定することは高度に望ましい。

【0100】周囲からの管の隔離、および試料管を押し下げる最小の限界の力Fを加えることは、試料管および試料ブロックの上の加熱されたカバーにより達成される。試料液体は、温度制御された金属ブロックの中に緊密に押圧保持された試料管の中にあり、この試料管が緊密にキャップをされ、その中のメニスカスが温度制御された金属ブロックの表面よりかなり下にある場合さえ、試料はなお対流により上方に熱を失う。有意には、試料が非常に熱い（変性温度が典型的には試料液体の沸点付近にある）とき、試料液体は水蒸気の還流によりかなりの量の熱を失う。このプロセスにおいて、水は熱い試料液体の表面から蒸発し、そしてキャップの内壁および試料ブロックの上部表面より上の試料管のより冷たい上部の上に凝縮する。比較的大きい体積の試料が存在する場合、凝縮は続き、そして凝縮物は蓄積しそして試料管の壁を下に流れて反応混合物の中に入る。この「還流」プロセスは還流される水の1g当たり約2300Jユールの熱を運ぶ。このプロセスは100μlの反応混合物の表面温度を数度低下させ、これにより反応の効率を大きく減少する。

【0101】反応混合物が少ない、例えば、20μlでありそして試料管が試料ブロックの上部表面より上で比較的大きい表面積を有する場合、反応混合物中の水のかなりの部分は蒸発することができる。次いで、この水は試料管の上の部分の内側で凝縮し、そしてサイクルの高い温度の部分の残の時間の間に、表面張力によりそこに止まることができる。これは残りの反応混合物をそのように濃縮することができるので、反応は障害されるか、あるいは完全に失敗する。先行技術のPCR熱的サイクルにおいては、この還流の問題は反応混合物の上に油または溶融した蝋の層を配置することによって処理されていた。この油または蝋の不混和性層は水性反応混合物上に浮き、そして急速な蒸発を防止した。しかしながら、油の添加に労力を要し、これは処理のコストを上昇させる。さらに、油の存在はその後の処理および分析の工程を妨害し、そして試料の汚染の可能性をつくった。事実、工業用等級の鉱油は、過去において、未知の油中の汚染因子により試料を汚染していたが、そのような汚染因子はユーザには未知であった。

【0102】本発明によれば、油の上層添加の必要性は排除され、そして熱損失および蒸発による反応混合物の濃縮および還流により引き起こされる予測されない熱的

作用の問題は、加熱カバーにより、試料ブロックの上方の試料管の上の部分が突出する空間部を取り囲み、そしてこの空間部を上から加熱することによって回避される。この加熱カバーをここでは定盤と呼ぶこともある。図19を参照すると、試料管を取り囲みそしてそれに下向きの力を加えて、図15において最小の限界力Fを供給する、構造体の断面図が示されている。加熱された定盤14はリードスクリュー312に連結されていて、矢印314で示す軸に沿ってリードスクリュー312の回転で上下に動くようになっている。リードスクリュー312はすべりカバー316中の開口を通してねじ込められ、そしてノブ318により回転される。定盤314はコンピュータ20により制御される抵抗ヒータ(図示せず)により水の沸点以上の温度に加熱される。

【0103】すべりカバー316はレール320および322上をY軸に沿って前後にすべる。すべりカバー316は垂直側317および319を含み、そして、試料ブロック12および試料管を囲むX-Z平面(図示せず)に対して平行な垂直側を含む。この構造は試料管(試料管324および326が典型的に示されている)にドラフトが作用するのを実質的に防止する。

【0104】図20は、すべりカバー316が後退位置にあって試料ブロックへのアクセスを可能とする、すべりカバー316および試料ブロック12の斜視図である。すべりカバー316は長方形の箱の蓋に類似し、ここで垂直壁328は除去されてすべりカバー316を試料ブロック12の上にすべらせる部分330を有する。すべりカバーは、図20においてY軸に沿って、そのカバーが試料ブロック12の上の中央にくるまで動く。次いで、ユーザはノブ318をある方向に回して、ノブ318上のマーク332が飾り板336上のマーク334と一直線上になるまで、加熱された定盤14を下げる。ある実施態様において、飾り板336はすべりカバー316の上部表面に永久的に添付することができ、こうして異なる大きさの試料を使用するとき、インデックスマーク334は異なる位置に配置することができる。換言すると、より高い試料管を使用する場合、加熱された定盤14は図15における最小の限界力Fを加えるほど多く下げる必要はない。使用において、ユーザはスクリュー318をねじって、インデックスマークが一直線になるまで、定盤14を低下させる。次いで、ユーザは最小の限界力Fが各試料管に加えられたことを知る。

【0105】図15および図19を合わせて参考すると、図19に示す加熱された定盤14を下げる前に、各試料管のためのプラスチックキャップ338はプラスチックトレー340(図19)の壁の上端レベルから上方約0.5mmまで突出する。このプラスチックトレー340は、9mmの中心間隔でゆるい8×12の配列にすべての試料管を保持する。試料ウェルのこの配列は、100μlの容量の96本までのマイクロアンプ(登録商標)

のPCR管、または0.4mlの容量の48本までのより大きいジェネアンプ(登録商標)を保持することができる。このプラスチックトレーについて、以下でさらに詳述する。プラスチックトレー340は、試料管のための8×12の配列を有する平らな表面を有する。この平らな表面は図15および図19の水平線として示されており、この水平線は図19において試料管324および326と交差する。プラスチックトレー340は、また、4つの垂直壁を有し、それらのうちの2つは図19に342および344で示されている。これらの垂直壁の上端レベルは、図15に346で示されており、基準面を規定する長方形の箱を形成する。

【0106】図15に最もよく示されるように、すべての試料管のキャップ338はこの基準面346の上方へわずかに突起し、それによりキャップ338が、加熱された定盤14によって軟化および変形され、かつ基準面346のレベルより下方へ「押しつぶされる」ようになっている。好ましい実施例において、加熱された定盤14は、図1におけるCPU20および定盤14中の抵抗ヒータ(図示せず)に連結したバス22により、105℃の温度に保持される。好ましい実施例において、図19におけるノブ318および親ねじ312は、加熱された定盤14が下降してキャップ338の上部と接触するまで、回転される。好ましい実施例において、試料管のためのキャップ338はポリプロピレンから作られる。これらのキャップは、加熱された定盤14と接触した直後に軟化する。キャップは軟化するにつれて変形するが、それらの弾性のすべてを失うことはない。キャップと接触後、定盤は基準面346上に配置されるまでさらに下降する。この下降は、キャップ338を変形し、そして少なくとも50gの最小の限界力Fで各試料管を押し下げて、各試料管を試料ウェルの中にしっかりと配置させる。キャップ338が基準面346の上方へ突出する量、および加熱された定盤14が基準面346上に静止するときの変形および残留弾性の量は、少なくとも50g、好ましくは100gの最小の限界力Fが、加熱された定盤14が基準面346のレベルまで下降した後に存在するすべての試料管について達成されるように、設計される。

【0107】加熱された定盤14およびトレー340の4つの垂直壁および平らな表面は、定盤14がトレーの上部へりすなわち基準面346と接触するとき、加熱かつシールされた隔壁を形成する。トレー340のプラスチックは比較的劣った熱伝導性を有する。加熱された定盤14とキャップ338との接触、および、試料ブロック12の上部レベル280の上方へ突出する試料管288の部分を、比較的劣った熱伝導性を有する材料の壁によって隔離することは、有益な結果を有することが実験的にわかっている。この構造により、管およびキャップの上方部分全体は、管およびキャップの内側表面上に凝

縮物がほとんどまたはまったく生じないような十分に高い温度を付与される。なぜなら、加熱された定盤は水の沸点より高い温度に保持されるからである。これは、図15における試料液体276が水の沸点付近の温度に加熱されるときも同様である。これにより、試料液体混合物276の頂面上に浮く油やワックス等の不混和性物質の層が不要となり、PCR反応に含まれる労働量が減少し、そして起こりうる試料汚染の1つの要因が排除される。

【0108】加熱されたカバーの非常に高い温度およびその試料ブロック12への密接性にかかるわらず、高温部と低温部との間の正確かつ急速な循環に対して試料ブロック12の能力への影響がほとんどないことが実験的にわかっている。加熱された定盤14は前述の還流プロセスにより試料の冷却を防止する。なぜなら、この還流プロセスは、キャップの温度を水の沸点より高温に保持し、それによりキャップの内側を乾燥して保持するからである。定盤14はまた、キャップを管から除去したときに、エアゾールの形成を防止する。他の実施例において、図15における許容しうる最小の下向きの力Fを、存在する試料管の数に無関係に各個々の試料管に加えることができ、かつ凝縮、還流、および対流冷却を防止可能なあらゆる手段が本発明を実施するために十分有効であろう。この下向きの力Fの適用、並びに還流および望ましくない試料液体の濃縮を防止する熱の使用は、好ましい実施例において実施するのと同一のシステムにより必ずしも実施する必要はない。

【0109】試料管はその全高を数千分の1インチだけ変えることができる。さらに、試料管のキャップも、その高さを数千分の1インチだけ変えることができる。また、試料ブロック12中の円錐形試料ウェルの各々は、正確な同一深さに孔を開ける必要がなく、また、わずかに異なる直径および角度に孔を開けることができる。したがって、キャップを付けた管群を試料ブロック内に配置して対応する試料ウェル内に設置するとき、キャップの上端部はすべてが同一高さである必要はない。キャップ上端の最大限の高さすれば、最も高い管と最も低い管との間で0.5mm程度であればよい。

【0110】それ自体が自由に位置決めできるように取り付けられた完全に平らな非加熱定盤14を、上記のキャップの配列上に押し下げた場合、この定盤はまず最も背が高い3つの最長の管と接触する。さらに圧力を加えてこれらの最長の管が多少圧縮されると、定盤はより低い短尺管のキャップと接触し始める。管およびキャップの組体が柔軟でない場合には、最短の管に接触する前に、最長の管が損傷を受ける可能性を有することは明らかである。あるいは、すべての長尺管を十分に圧縮して最短の管に接触するために必要な力は、それを加えることが装置にとって大きすぎる場合がある。いずれの場合においても、1つまたは複数の短尺管はまったく押圧さ

れないか、または不十分な力で押し下げられることになり、その短尺管の熱時間定数を他のすべての管の熱時間定数に等しくしてしまう。これは、試料ブロック中のすべての管について同一のPCRサイクルの達成を失敗させるであろう。なぜなら、異なる熱時間定数をもつ管は、他の管と歩調をそろえないからである。定盤を加熱しキャップを軟化すると、1つの要因として管の高さを異ならせる製造上の許容誤差が排除され、したがって上記の問題点が排除される。

【0111】他の実施例において、全体の加熱された定盤14は柔軟なゴム層でカバーされる。加熱された定盤上の柔軟なゴムは高さ許容度の問題を解決するとともに、加熱された定盤から管のキャップへの熱の流れを遅延させる熱的絶縁層として作用する。さらに、高温度における長時間の使用では、ほとんどのゴム材料は劣化するか、あるいは堅くなる。したがって、加熱された定盤の表面は、熱のすぐれた熱伝導体である金属からなることが望ましい。さらに他の実施例において、96個の個別のばねを定盤に取り付けて、各ばねがそれぞれ1つの試料管を押し下げるようになることができる。これは複雑かつ費用のかかる解決法であり、また機械的精確さをもって定盤を管の配列の上に整列させることが必要なので困難かつ面倒である。好ましい実施例における各試料管についての必要な個々のコンプライアンスは、プラスチックキャップの使用により与えられる。これらのキャップは定盤による力の下で予測可能な方法でつぶれるが、つぶれたときできえ、各試料管をそのウェルの中にしっかりと静止させて保持するために適切な下向きの力Fをなお發揮する。

【0112】図15に示す試料管のキャップ338において、表面350はぎざぎざ、ぱり、および切込みを含まず、それにより試料管288の内側壁352との間に気密シールを提供できるようにする。好ましい実施例において、キャップの材料はポリプロピレンである。適当な材料は、前述のヒモント(Himont)により製作されたヴァルティク(Valtec)HH-444またはPD701ポリプロピレン、またはアメリカン・ヘスヒト(American Heesch)によるPPW1780である。好ましい実施例において、キャップのドーム部分についての壁厚さは0.130±0.005インチ(3.30±0.12mm)である。好ましい実施例において、肩部356の厚さは0.025インチ(0.64mm)であり、キャップのドーム形部分の幅は0.203インチ(0.52mm)である。

【0113】図15における最小の限界力Fをすべての試料管に加えることができ、かつキャップと試料管の上方部分とを、凝縮および還流を防止するに十分な高温に加熱させることができるようにあらゆる材料および形状を有するキャップが、本発明の実施を可能とする。ドーム形のキャップ338は、キャップの変形を促進する薄

い壁を有する。加熱された定盤は高い温度に保持されるので、ドーム形のキャップの壁厚さを射出成形によって容易に製造される程度に十分に厚くすることができる。なぜなら、管の高さの差を考慮するために必要なコンプライアンスは、室温において不必要なためである。定盤は、本発明に従って94°C~110°Cの温度に保持することができるが、水の沸点は100°Cであるので、100°C~110°Cの範囲は還流の防止に好ましい。この温度範囲において、キャップは1mm程度に容易につぶれるのに十分なだけ軟化することが実験的にわかっている。使用するポリプロピレンの弾力性は、これらの温度においてさえつぶれを完全には非弾性的でなくするものであることを実験が示している。すなわち、加熱された定盤はキャップの永久的変形を引き起こすが、キャップの材料は、それらの室温における弾性率の有効な部分をなお保持するので、最小の限界力Fが各試料管に加えられる。さらに、加熱された定盤は、試料ブロックの中にある管の個数に無関係に、キャップの軟化によって過度の力を用いることなく、接触するすべてのキャップを一様な高さにする。

【0114】キャップの温度はPCRサイクル全体の間に水の沸点より高温であるので、各キャップの内側表面は完全な乾燥状態を維持する。したがって、PCRプロセスの最終段階で、試料を、試料ブロックから取り出す前に室温に冷却する場合や、各試料管上のキャップを開く場合に、交差汚染を生じうる試料管の内容物のエアゾル状噴霧が発生する可能性はない。なぜなら、シールを破壊したとき、管シールに対するキャップに液体が存在しないからである。

【0115】これはきわめて有利である。なぜなら、増幅した生成物のDNAを含有するエアゾールの小さい粒子は実験室を汚染し、そして例えば他の患者等の収集源からの試料を含有する試料管の中に入り、それにより非常に面倒な陽性または陰性の誤診断結果を引き起こすからである。PCR増幅プロセスのユーザは、他の試料を汚染しうるエアゾールの発生がないことに極めて関心がある。

【0116】使い捨てプラスチック要素を使った装置を使用して、個々の試料管を8×12の配列に変換する。この8×12の配列は、マイクロタイタープレートのフォーマットを有する実験室装置に適合し、また、十分な個々の動きの自由度を維持してこの装置の構成要素の多様な熱膨張速度の差を補正する。この装置の台に対する熱的に柔軟なキャップの関係は、試料ブロック、およびキャップを所定位置にもつ2本の試料管の断面図である図21Aにおいて最もよく見られる。図示の試料管は、プラスチック製の96個のウェルを有するマイクロタイタートレーとリティナーとの1つの実施例の組み合わせにより、所定位置に保持されている。図21Bは、別の好ましい実施例であり、上記装置の種々の使い捨てプラ

スチック要素の構造および相互作用を示す。長方形のプラスチック製96ウェルマイクロタイタープレートのトレーのフレーム342は、試料ブロック12の表面上に載置される。フレーム342の上部へり346（前述の基準面346と同義）は、キャップ（その1例をキャップ364で示す）の高さよりほぼ0.5インチ（12.7mm）短い高さを有する。キャップ付き管のすべては、フレーム342のへり346より高く突出する。フレーム342の下向きに延びるうね366は、その全長を通してガードバンドみぞ78の中に延びる。しかしながら、フレーム342はギャップ（図示せず）を有し、このギャップは図2に平面図でかつ図7に断面図で示す温度センサー用の、みぞ78内のギャップに相当する。

【0117】前述の基準面346はフレーム342の上部へりにより形成される。この基準面が、加熱された定盤と相互作用する方法は次の通りである。図20に示すノブ318をねじ込んでインデックスマーク332および334に合致させて増幅実験を開始する前に、目盛り決めプロセスを実施して図20に示す飾り板336上のインデックスマークの位置を決める。この目盛り決めは、図21に示すフレーム342を試料ブロックの位置に配置することによって開始する。しかしながら、フレーム342は空であるか、あるいはその中の管は所定位置にキャップをもたない。次いで、ノブ318をねじ下げて、加熱された定盤14をフレーム342の上部へり346とその周辺全体の周囲にしっかりと接触させる。ノブ318を十分にねじ下げて、加熱された定盤を基準面346上に載置しつつフレーム342を試料ブロックの上部表面280に対して強く押圧したとき、好ましい実施例における回転可能な飾り板336を回転させて、飾り板上のインデックスマーク334をノブ318上のインデックスマークと合致させる。次いで、ノブ318を反時計回りに回転して定盤14を上昇させ、そして図19に示すカバー316を負方向（Y方向）にすべらせて、フレーム342および試料ブロック12を開放する。次いで、試料混合物を充填したキャップ付き試料管をフレーム342中の所定位置に配置する。次に、加熱されたカバー316を試料ブロックの上に戻して配置し、ノブ318を時計回りに回転して加熱された定盤14を下げて、ノブ上のインデックスマーク332を前述のように位置決めしたインデックスマーク334と合致させる。これによりすべての管は、加えられる最小の力Fによって確実に設置されることとなる。インデックスマークの使用は、ユーザに簡単かつ評価可能な作業を実施させる。

【0118】わずかの試料管のみが所定位置に存在する場合、各インデックスマーク332および334を合致させるために、小量のトルクを必要とするだけである。しかしながら、多数の管が存在する場合、各インデックスマークを合致させるためには、ノブ318に対してよ

り大きなトルクを必要とする。なぜなら、各管は、キャップが変形するとき加熱された定盤14の下向きの動きに抵抗を生じるからである。しかしながらユーザは、各インデックスマーク332および334が整列したとき、加熱された定盤が再びフレーム342の上部へり346に対して緊密に配置され、かつすべての管がそれに加えられた最小の限界力Fを有することを知る。これにより、すべての管の熱時間定数は実質的に同一であることが事実上保証される。

【0119】他の実施例において、インデックスマーク332および334を省略し、ノブ318をそれ以上回転しなくなるまで単に回転する方法も可能である。このような状態は、加熱された定盤14が上部へりすなわち基準面346に到達して、プラスチック製のフレーム342が加熱された定盤14のそれ以上の下向きの動きを停止させたときに生じる。この実施例、および好ましくは前述のインデックスマークの実施例において、フレーム342のプラスチック材は、加熱された定盤14と接触するとき、それ自体の変形を防止するために十分に高い溶融温度を有することが明らかである。好ましい実施例において、フレーム342のプラスチック材は0.05インチ(1.27mm)の壁厚さをもつセラニーズナイロン1503である。

【0120】前述の装置の利点は、異なる高さを有するフレーム342を使用することのみによって、異なる高さの試料管を使用できることにある。フレーム342は、それ自体と管とが試料ブロック内に配置されているとき、キャップされた管の先端面より約0.5mm低い高さを有すべきである。好ましい実施例において、2つの異なる管高さを使用する。加熱された定盤14を推進させる親ねじ312(図19)の動作範囲は、使用される試料管のすべての異なる高さについて十分なものでなければならない。もちろん、特定のPCR処理サイクルの間、すべての管は同一高さでなければならない。

【0121】前述の装置は、試料ブロックにおける均一な温度、ブロックから試料への均一な熱伝導性、および周囲環境の変動性からの管の絶縁をもたらす。96個までの任意の個数の試料管は、マイクロタイタープレートのフォーマットに基づいて配列することができる。この装置は、非常に多数の試料に対する正確な温度制御、及び任意の試料の温度を実際に測定せずに、すべての試料に対する試料温度の視的指示を可能とする。PCR反応のための容器として、従来技術においては、マイクロ遠心器のために本来設計されたポリプロピレン管が一般に使用されている。従来技術におけるこの管は円筒形の断面を有し、その上部は気密シールをつくるスナップ式キャップにより閉じられる。この管は、約17°の夾角をもつ円錐台形からなる底部領域を有する。

【0122】このような円錐形試料管を、同一夾角を有する円錐形キャビティを備えた試料ブロックの試料ウェ

ル内に押し下げ、そしてこの管内の試料混合物が円錐形容積内でかつ試料ブロックの下方位置に完全に配置されると、ブロックと液体との間の熱伝導は、上記配列に亘る試料温度のすぐれた均一性によって、適切に予測することができる。試料ブロックと試料混合物との間の熱伝導の適切な制御を達成するために、円錐形の管および試料ウェルの夾角は密接に合致する必要があり、そして管およびウェルの円錐形表面は、なめらかでかつ相互に同一面的な関係に保持されなければならない。さらに、最小の限界力Fを各試料管に加えて各管を試料ウェル内へ密に押圧し、それにより例えば図15に示す空間291内に捕捉された液体からの水蒸気の形成等の熱循環の間、いかなる原因によっても試料管が上昇せず、またはゆるくならないようにする必要がある。そして、各管に同一量の試料液体を充填しなくてはならない。上に列挙した条件が満足される場合、試料ブロックと各管中の試料液体との間の熱伝導性は、図15に示す円錐形プラスチック壁368、および円錐形試料管壁の内側表面370における試料液体の境界層(図示せず)の伝導性により、主として決定される。

【0123】プラスチック管壁の熱伝導性はそれらの厚さにより決定され、そしてそれらの厚さは管製造の射出成形法により密接にコントロールすることができる。試料管内の試料液体は事実上同一の熱的性質を有する。実験および計算により、96ウェルの一体成型マイクロタイタープレートは、PCRに対して限界的にのみ適合することがわかっている。なぜなら、アルミニウムとプラスチックとの間の熱膨張係数の差は、配列を横切る試料液体への熱伝導性の均一性を破壊しうる寸法変化を生ずるからである。すなわち、このような一体成型プレート内の各ウェルはプレート表面を通して他のウェルに連結されるので、各ウェル間の距離は、プレートの初期の製造時に決定されるが、プレートのプラスチック材が有意な熱膨張係数を有するために温度変化とともに変化する。また、金属の試料ブロック12内の試料ウェル間の距離は、試料ブロックの温度に依存する。なぜなら、アルミニウムは、プラスチックの熱膨張係数と異なる有意の熱膨張係数を有するからである。すぐれた熱伝導性を有するために、96ウェルの一体成型マイクロタイタープレート内の各試料ウェルは、すべての温度において試料ブロック内の対応するウェルにほぼ完全に適合する。試料ブロックの温度は極めて広範囲にわたって変化するので、試料ブロック内の各試料ウェル間の距離はPCRサイクルの間にサイクル的に変化する。プラスチックおよびアルミニウムの熱膨張係数は実質的に異なるので、試料ブロック内の各ウェルの分離距離は、プラスチック製の96ウェルの一体成型マイクロタイタープレートにおける各試料ウェル間の距離に比べ、温度変化に応じて異なって変動する。

【0124】このように、PCR温度範囲にわたる試料

管と対応する試料ウェルとの間の完全な適合のための重要な基準として、96ウェルの配列内の各試料管は個々に自由に横方向に動くことが必要であり、そして試料ウェルの壁と同一面的接触を行うために必要な量に応じて、各管が個々に自由に押し下げられることが必要である。本発明において使用する試料管は、従来技術によるマイクロ遠心管と異なり、試料液体に入りする熱移動を速くするために試料管の円錐の切頭部分の壁厚さが非常に薄い。これらの管の上方部分は、円錐形部分より厚い壁厚さを有する。図15において、円筒形部分288の壁厚さは一般に0.030インチ(0.76mm)であるが、円錐形壁368の壁厚さは0.009インチ(0.23mm)である。薄い部分は射出成形工程において厚い部分より速く冷却するので、薄い部分が冷却する前に完全な成形物を得ることが重要である。

【0125】試料管の材料は化学的にPCR反応と適合性を有する必要がある。ガラスはPCRの適合性材料ではない。なぜなら、DNAはガラスに粘着し、かつ剥離せず、PCR增幅を妨害するからである。好ましくは、オートクレーブ処理可能なポリプロピレンを使用する。適切な3タイプのポリプロピレンは、上述した通りである。ある種のプラスチックは、プラスチックからのガス発生あるいはプラスチック壁へのDNAの粘着のために、PCRプロセスと適合性ではない。ポリプロピレンは現時点において最もよく知られているクラスのプラスチックである。従来一般的な射出成形技術および射出成形のための型製造技術は、本発明を実施する目的に十分であろう。円錐形の試料管の使用は、実質的にすべての製造の許容誤差を、高さの誤差、すなわち試料管を試料ウェル内に配置したときの、キャップの先端と試料ブロックの上部との高さの各管毎の変動性に転換する。例えば、試料管壁の角度に関する角度誤差は、管を試料ブロック内に配置したとき、管壁の角度と試料ウェル壁の角度が一致しないために、高さの誤差に変換される。同様に、円錐の寸法における直径の誤差は、管の円筒形部分が、適切な寸法の管より深く侵入するかしないかのいずれかを示すので、高さの誤差に変換される。

【0126】配列を横切る熱伝導性の高度な均一性を得るために、試料管と試料ウェルとの間のすぐれた整合は、熱膨張速度の差に無関係に、0～100°Cの全温度範囲にわたって、96個のウェルのすべてに対して形成されなければならない。また、96個の試料管の各々は極めて高度に均一な寸法および壁厚さを有する壁を備えなければならない。試料混合物を保持する各試料管は取り外し可能な気密キャップを装備すべきである。このキャップは気密シールをつくり、反応混合物が沸点又はその近辺にあるとき、反応混合物からの水蒸気の損失を防止し、それにより試料混合物の体積の減少を防止する。これらすべての要因の組み合せにより、全96ウェルに対して均一な熱伝導性を達成するように96個の個別の

試料ウェルをもつ一体成型のマイクロタイタープレートを製造することが極めて困難となる。

【0127】各試料管について必要な個々の横方向および垂直方向の自由度をもたらすあらゆる構造が、本発明を実施するために十分に適合する。本発明の好ましい実施例に従い、前述のすべての要件は4ピースの使い捨てプラスチック製装置の使用により達成される。この装置は、異なる熱膨張速度を補正するために必要なすべての方向における十分な自由度を各試料管に与え、しかも、工業規格の96ウェルのマイクロタイタープレートを使用して作業するように寸法を決められた他の実験室装置との適合性、およびユーザの便利さのために、96ウェルのマイクロタイタープレートのフォーマットにおいて96個までの試料管を保持するものである。マルチピースの使い捨てプラスチック製装置は、製造の許容誤差およびPCR熱サイクルの間に直面する広い温度範囲にわたる異なる熱膨張速度に対して、極めて大きな許容性を有する。

【0128】図21は、4ピースのプラスチック製装置の大部分の構成要素の別の実施態様を断面図で示すものであり、この装置は、異なる熱膨張速度を考慮するための十分な動作自由度で試料ウェル内に複数の試料管を保持するように組み立てられる。図45は、使い捨てプラスチック製マイクロタイタープレートの模範装置の全部分を分解図で示す。この図面は、すべての試料管を8×12のマイクロタイタープレートのフォーマットにおける96個のウェル配列にゆるく保持した状態でマイクロタイタープレートを形成するために、各部分を組合せる方法を示す。図22は、図21に部分断面図で示された本発明によるマイクロタイタープレートのフレーム342の平面図である。図23はフレーム342の底面図である。図24は図22の線24-24'から見たフレーム342の端面図である。図25は図22の線25-25'から見たフレーム342の端面図である。図26は図22の線26-26'に沿ったフレーム342の断面図である。図27は図22の線27-27'に沿ったフレーム342の断面図である。図28は図22の線28-28'から見たフレーム342の部分切欠き側面図であり、後述するリティナーがフレーム342をクリップする状態を詳細に示す。

【0129】図21～図28を合わせて参照すると、フレーム342は水平のプラスチックプレート372を備え、このプレート372上にマイクロタイタープレートの規格フォーマットで9mmの中心間隔を置いて96個の孔が形成される。8個の行A～Hおよび12個の列1～12が存在する。行D、列7における孔374はこれらの孔の典型である。フレーム342の各孔内に、円錐形試料管、例えば、図15に示す試料管376が配置される。各試料管はそれを配置する孔より直径が約0.7mmだけ小さいので、孔内でのゆるい嵌合が形成される。

これは図21(A)および(B)において最も理解されるように、典型的な孔の内側へり378とその中に配置された試料管の側壁380との間の距離として示される。図21(A)および(B)中の参照番号382は、試料管376の円筒形部分の外側壁から間隔を置いて位置する孔の対向へりを示す。

【0130】各試料管は図15、図21(A)および(B)に示した肩384を有する。肩384は各試料管の円筒形部分288の全周囲に形成される。肩384の直径は、フレーム342の各孔を通過しないほどに十分に大きく、しかも隣接する孔内の隣接する管の肩に接触するほどには大きくない。すべての管をフレーム内の各孔の中に配置すると、次にプラスチックリティナー386(図21および図45に最もよく示されている)をフレーム342の開口内に嵌合される。このリティナーの目的は、すべての管がフレーム342内から外に落下または押し出されず、かつそれらのフレーム342内でのゆるい嵌合を妨害しないように、それらすべての管を所定位置に配置することにある。リティナー386は、管の肩384がリティナー386またはフレーム342に当接する前に各試料管がある程度鉛直方向へ上下移動するように、寸法が決定されかつフレーム342に嵌合される。このように、フレームおよびリティナーは相互に連結されたときに、96個までの試料管にマイクロタイタープレートのフォーマットを提供するとともに、各管が図15に示す最小の限界力Fの影響下ですべての温度においてその最良の嵌合状態を自由に見いだすように、水平および垂直方向への十分な自由度を提供する。

【0131】図29および図30を参照すると、試料管および肩のより明瞭な外観が示される。図29および図30は、それぞれ、典型的な試料管の肩部分の側面図および部分的上部断面図である。例えば以下で詳述するようなプラスチック製のドーム形キャップは、図29に示す試料管内へ挿入され、試料管の上部の内側壁390に対して気密シールを形成する。試料管の内側壁に形成されたうね392は、ドーム形キャップのストッパーとして作用して、必要以上の侵入を防止する。通常、ドーム形キャップはウェブによって接続されたストリップ状のものである。図31はウェブ394により接続されそしてタブ396で終わる3つのキャップの側面図である。このタブは単一の引きによりキャップの列全体を除去するのに役立つ。通常、ウェブ394は試料管の上部表面398上に位置し、そしてキャップが試料管の中にさらに侵入するのを防止する。各キャップはキャップと試料管の内側壁との間にハーメチックシールを形成するうね400を含む。図32は12の接続されたキャップの典型的なストリップ中の3つのキャップの上面を示す。

【0132】リティナーのより詳細な理解のために、図33～37を参照する。図33はプラスチックのリティナーの上面図である。図34は図33の線34-34'に沿うリティナーの側面図である。図35は図33の線35-35'に沿うリティナーの端面図である。図36は図33の線36-36'に沿うリティナーの断面図である。図37は図33の線37-37'に沿うリティナーの断面図である。図33～37を参照すると、リティナー386は垂直壁404により取り囲まれた単一の水平のプラスチック平面402から構成されている。平面402はその中に形成され、4孔/群の24群に分割された、8×12列の96孔を有する。これらの群は平面402の中に形成されたうね、例えば、うね406および408により区画されている。各孔、それらのうちの典型的である孔410は、直径Dを有し、この直径Dは図29における直径D₁より大きく、そして直径D₂より小さい。これにより、リティナーは試料管がフレーム342の中に配置された後、試料管の上をすべることができる。しかし、肩384が大き過ぎて孔410を通過できないので、試料管はフレームから落下できない。

【0133】リティナーはフレーム342の中に、図34および36に示すプラスチックタブ414により嵌合する。これらのプラスチックタブは、図23に示すように、フレーム中のスロット416および418を貫通する。2つのプラスチックタブ414が存在し、各々はリティナーの長いへり上に存在する。これらの2つのプラスチックのタブは図33に414Aおよび414Bとして示されている。

【0134】図22～28のフレーム342は、その中に配置された96の試料管及び所定位置に嵌合されたリティナー386を備え、単一の単位、例えば、図21Aおよび21Bに示すような単位を形成し、これはPCR処理のために試料ブロック12の中に配置することができる。処理後、フレーム342を試料ブロックの中から外に持ち上げることによって、すべての管を同時に取り出すことができる。便利さおよび貯蔵のために、試料管およびリティナーを所定位置にしてフレーム342を、ベースと呼ぶ他のプラスチック成分の中に挿入することができる。ベースは標準の96ウェルのマイクロタイタープレートの外側寸法およびフットプリント(footprint)を有し、それは図38～44に示されている。図38はベース420の上面図であるが、図39はベースの底面図である。図40は図38の線40-40'に沿うベースの側面図である。図41は図38の線41-41'に沿うベースの端面図である。図42は図38の線42-42'に沿うベースの断面図である。図43は図38の線43-43'に沿うベースの断面図である。図44は図38の線44-44'に沿うベースの断面図である。

【0135】ベース420は傾斜したへりをもつ8×12列の孔が形成されているプラスチックの平らな平面422を含む。フレーム342がベースの中に位置しているとき、試料管の底がベース中の円錐形孔の中に嵌合す

るような、寸法および間隔をこれらの孔は有し、フレーム342を試料ブロックに取り付けるとき、試料管が保持されるのと同一のフレーム342に対する関係で試料管は保持されている。孔424はベースの中に形成された96の孔の典型であり、それは図38、44および43に示されている。個々の試料管は、トレーとリティナーとの間にゆるく捕捉されているが、フレームがベースの中に挿入されているとき、しっかりと位置し、不動となる。典型的な試料管424がベースの中に嵌合される形式は図44に示されている。換言すると、フレーム、試料管およびリティナーがベース420の中に位置するとき、それ全体は工業的に標準の96ウェルのマイクロタイタープレートと機能的に同等のものとなり、それは、それ以上の処理のために96ウェルの工業的に標準のマイクロタイタープレートのための事実上任意の自動化ピッティングまたはサンプリングのシステムの中に配置され得る。

【0136】試料管は必要な試薬および増幅すべきDNAで充填した後、試料管にキャップすることができる。図31および32に示すキャップ片の他の実施態様において、8×12列でキャップを接続するしなやかなウェブをもつ96のキャップのマット全体を使用することができる。これはウェブは、図31に394で示されており、十分にしなやかであり、キャップは試料管が小さい動きを妨害されないようにしなくてはならず、これらの試料管はすべての温度において試料管の円錐形壁の中に完全に嵌合しなくてはならない。管、キャップのフレーム、リティナーおよびベースのアセンブリーは、管の充填後、サーマルサイクラーに入れる。そこで、フレーム、キャップ付き管およびリティナーのプレートはベースから1単位として取り出される。次いで、この単位を試料ブロック12の中に配置して、図21Aおよび21Bに示すアセンブリーを作り、管は試料ブロック中の円錐形壁の中にゆるく保持されている。図21に示すように、フレーム342はガードバンドの上部表面上に位置する。好ましい実施態様において、うね366はガードバンドのみぞ78の中に下向きに延びるが、これは必須ではない。

【0137】次に、加熱されたカバーは試料の上にすべらせ、加熱した定盤を前述したようにスクリューで下げて、フレーム342の上部へり346と接触させる。図19における加熱された定盤14がキャップ接触した後、数秒以内で、キャップは軟化し、そして図19におけるレッドスクリュー312からの下向きの圧力下に降伏する。次いで、ノブ318を回転して、図20におけるインデックスマーク332および334を合致させ、これはすべての試料管を試料ブロックの中に、少なくとも最小の限界力Fおよび加熱された定盤14の間のすべての空気ギャップで、緊密にプレスさせ、試料ブロックおよびフレーム342の上部へり346は緊密に閉じ

る。ここで、試料管は完全に閉じ、制御された環境の中にある、そして温度の正確なサイクリングを開始することができる。

【0138】PCRプロトコルの終わりにおいて、加熱された定盤14は上方に、試料管から離れる方向に動き、加熱されたカバー316は道からはずれすべてフレーム342および試料管を露出する。次いで、フレーム、試料管およびキャップを取り出して空のベースの中に再配置すると、キャップを除去することができる。各キャップまたはキャップのひもを引き、リティナーは管をトレーの中から外に出ないように保持する。ベースの中に形成したリブ(図38~44に示されていない)は、図33に示すリティナータブ414Aおよび414Bと接触してリティナーを所定位置にスナップ式に保持し、こうしてキャップの除去により管に加えられた力がリティナー366を変位させないようにする。

【0139】明らかのように、フレーム342は、必要に応じて、96より少ない管とともに使用することができる。また、リティナー386は、必要に応じて、上記スナップを分離することによって、除去することができる。一度に数本の管を使用し、そしてこれらの管を個々に取り扱うとき、試料ブロック上にリティナーを使用しないで、空のフレーム342を配置することができる。次いで、ユーザは「試験管のラック」としてベースを使用し、そしてその中に小さな数の管をセットする。次いで、管は手動で充填し、そして個々のキャップをすることができる。次いで、管を試料ブロック中のウェルの中に個別に入れ、加熱されたカバーを閉じ、そして加熱された定盤14をスクリューで下げて、マークを合致させる。次いで、PCRサイクルを開始できる。サイクリングが完結したとき、カバー316を除去し、そして試料管を有効なベースの中に個々に配置する。リティナーはこの型の使用において不必要である。

【0140】図47および図48を参照すると、図1においてCPUブロック10により表わされる制御システムの好ましい実施態様のブロック線図が示される。図47及び図48の制御エレクトロニクスの目的は、なかでも、所望のプロトコルを定めるユーザの入力データを受けとりかつ記憶し、種々の温度センサーを読み、試料温度を計算し、計算した試料温度をユーザが定めたPCRプロトコルにより定められた所望の温度と比較し、電力ラインの電圧をモニターし、そしてフィルムヒータソーンおよびランプ冷却弁を制御して、ユーザが定めたPCRプロトコルを実施することである。マイクロプロセッサ(以後CPUという)450は、後述するソースコードの形で付録Cに記載されている制御プログラムを実行する。好ましい実施態様において、CPU450は「OKI CMOS 8085」である。CPUはアドレスバス452を推進し、これにより図47及び図48における他の回路要素の種々のものがアドレスされる。CP

Uは、また、データバス452を推進し、これによりデータは図47及び図48における他の回路要素の種々のものに伝えられる。

【0141】付録Cの制御プログラムおよびあるシステム定数はEPROM456に記憶される。ユーザが入れたデータおよびシステム定数および導入プロセスの間に測定された特性（下に記載する導入プログラムの実行）はバッテリーバックアップRAM458に記憶される。システムクロック／カレンダー460は、制御ソフトウェアの説明において下に記載する、PCRの実行および電力故障の間の事象の履歴を記録する目的で、データおよび時間の情報をCPU450に供給する。アドレスデコーダー462はアドレスバス452からのアドレスを受けとりそしてデコードし、そしてチップ選択バス464上の適当なチップ選択ラインを活性化する。ユーザはディスプレイ468上のCPUにより表示される情報に応答してキーボード466を経てPCRプロトコルを入れる。ユーザとCPU450との間の2ウェイ連絡は、制御ソフトウェアの説明のユーザのインターフェースの節において以下で詳細に記載する。キーボードインターフェース回路470はユーザのキーボードを、データバス454を経てCPUにより読み込まれるデータに変換する。

【0142】プログラム可能な間隔タイマー472および474の各々はカウンターを備え、これらのカウンターはCPU450により計算されたカウントを負荷され、電力が種々のフィルムヒータゾーンに加えられる間隔を制御する。割り込み制御装置476は、割り込み要求をCPU450に200ミリ秒毎に送って、制御ソフトウェアの説明において以下で記載するPIDタスクをCPU450に実行させる。このタスクは温度センサーを読み、そして加熱または冷却の電力を計算して試料温度を現在のレベルから、ユーザが望むレベルに動かし、これはそのPCRプロトコルにおける時点のために実行される。UART478は、RAM480に記憶されたデータをプリンタに出力できるように「RS232」インターフェース回路480を実行させる。制御ソフトウェアは各PCRの作動のレコードを維持し、これは実際に実行されたPCRプロトコルがユーザが望むPCRプロトコルに対応したというユーザの評価の目的のための作動の間に、種々の時間に存在した実際の温度に関して実施される。さらに、特定のPCRプロトコルの間に望む特定の時間および温度を定めるユーザが入れたデータが記憶される。すべてのこのデータおよび他のデータは、CPU450により同様によく読みられ、そしてUART478を経てRS232ポートに連結されたプリンタに出力される。RS232インターフェースは、また、外部のコンピュータに試験の目的でアドレスおよびデータバスの制御をさせる。

【0143】周辺インターフェースチップ（以後PICといふ）482は、4入力／出力レジスタのプログラム可

能なセットとして働く。パワーアップにおいて、CPU450はアドレスデコーダー462およびチップ選択バス464を経てPIC482を選択する。次いで、CPUUはPICへのデータワードをデータバス454を経て書いて、どのレジスタを出力ポートおよび入力ポートにすべきかに関して、PIC482をプログラミングする。引き続いて、CPU450は出力レジスタを使用して、プログラム可能なアレイ論理チップ（PAL）484の内部の論理状態を制御するために、データバス454を経てCPUによりその中に書かれたデータワードを記憶する。PAL484は、複数の入力信号および複数の出力信号を有する状態装置である。PALは一般にある数の異なる状態を有する論理の列を有する。各状態は入力における論理状態の列またはベクトルにより定められ、そして各状態は出力の論理状態の異なる列またはベクトルを生ずる。CPU450、PIC482、PAL484および下記において定義するいくつかの他の回路は、共働してPAL484からの種々の出力信号の異なる状態を発生する。これらの異なる状態および関連する出力信号は、以下に記載するよう图47及び图48に示すエレクトロニクスの作動を制御するものである。

【0144】12ビットのアナログデジタル（A/D）コンバータ486は、ライン488および490上のアナログ電圧をデータバス454上のデジタル信号に変換する。これらはCPUによりA/Dコンバータのためのアドレスを発生し、こうしてA/Dコンバータのチップ選択入力に連結したバス464上にチップ選択信号が活性となりそしてコンバータを活性化することによって読み込まれる。ライン488および490上のアナログ信号は、2つのマルチプレクサ492および494の出力ラインである。マルチプレクサ492は4つの入力ポートを有し、各々は2つの信号ラインを有する。これらのポートの各々はシステムにおける4つの温度センサーの1つに連結されている。第1のポートは試料ブロックの温度センサーに連結されている。第2および第3のポートは、それぞれ、冷却液および周囲の温度センサーに連結されており、そして第4ポートは加熱されたカバーの温度センサーに連結されている。これらの温度センサーの各1つのための典型的な回路は图49に示されている。20,000オームの抵抗器496は、ノード497において、バス接続ライン（図示せず）を経て图47及び图48における調整された+15ボルト電力供給498を受けとる。この+15DC信号のリバースはゼンナーダイオード500をバイアスする。リバースバイアス電流およびゼンナーダイオードを横切る電圧低下は温度の関数である。ダイオードを横切る電圧低下は、ライン502および504を経てマルチプレクサ292に入力される。各温度センサーはマルチプレクサ292への同様な接続を有する。

【0145】マルチプレクサ494は、また、入力ポー

トを有するが、3つのみが接続されている。第1入力ポートは較正電圧発生器506に連結されている。この揮発性発生器は、2つの正確に制御された電圧レベルをマルチブレクサの入力部に出力し、非常に熱的に安定している。すなわち、電圧源506により参照電圧の出力は、少なくとも温度とともに、ごくわずかにドリフトする。この電圧は時間毎にCPU450により読みられ、そして、この参照電圧が下に記載する導入プロセスの実行の間に測定された既知の温度において有したレベルを表す、記憶された定数と比較される。参照電圧が測定されたレベルからドリフトし導入プロセスの間に記憶された場合、種々の温度およびライン電圧を感知するための使用した他の電子回路が、ドリフトし、そしてそれらの出力を調節し、相応して温度測定プロセスにわたって非常に正確な制御を維持することをCPU450は知る。マルチブレクサ494への他の入力は、ライン510を経てRMS対DCコンバータ回路512へ連結される。この回路はステップダウントランジスタ516に連結された入力514を有し、そしてAC電圧入力518にそのとき存在するライン電圧に比例するAC電圧を入力514において受けとる。RMS対DCコンバータ回路512はAC電圧を整流し、そしてそれを平均して、ライン518上のAC入力電圧に対して、また、比例するDC電圧をライン510上に発生する。

【0146】4つの光学的に連結されたトライアックドライバー530, 532, 534および536は、PAL論理484から制御バス538を経て制御信号を受ける。トライアックドライバー530, 532および534の各々は、3つのフィルムヒータゾーンの1つへの電力を制御する。これらのヒータゾーンはブロック254, 260/262および256/258(図13において使用したのと同一の参考数字)により表わされる。トライアックドライバー536は、ブロック544により表わされる加熱されたカバーへの電力を熱的カットアウトスイッチ546を経て制御する。フィルムヒータのヒータゾーンはブロック熱的カットアウトスイッチ548により保護される。熱的カットアウトスイッチの目的は、不安定な間隔の間放置されているトライアックドライバーに導く破壊の場合において、加熱されたカバー上のフィルムヒータ/試料ブロックの溶融を防止することである。このような事象が起こった場合、熱的カットアウトスイッチは過度に熱い状態を検出し、そしてライン552または554上のトライアックを遮断する。

【0147】フィルムヒータの主なヒータゾーンは360ワットの定格であるが、マニホールドおよびヘリのヒータゾーンは、それぞれ、180ワットおよび170ワットの定格である。トライアックドライバーは「モトローラ MAC 15A1015アンプトライアック」である。各ヒータゾーンは2つの電気的絶縁された区画に分割され、各々は1/2の電力を消費する。2つの半分

は150ボルトのRMSより低いライン電圧518について並列に接続されている。これより大きいライン電圧について、2つの半分は直列に接続されている。これらの別の接続は「パーソナリティ」プラグ550を通して達成される。フィルムヒータゾーンのためのAC電力供給はライン559であり、加熱されたカバーのためのAC供給はライン560を経る。ゼロ交差検出器566は、ライン518上のAC電力の各ゼロ交差においてライン568上にパルスを放射することによって、バイアスシステムのタイミングを提供する。ゼロ交差検出器はアナロググラウンドに対して参照される「ナショナルLM 311N」であり、そして25mVのヒステリシスを有する。ゼロ交差検出器はトランス516からその入力をとり、そしてトランス516は0~240ボルトのACのAC入力信号について0~5.52ボルトの出力AC信号を出力する。

【0148】電力トランス570はAC電力をポンプ41に供給し、そしてポンプ41はランプ冷却チャンネルおよびバイアス冷却チャンネルを通して冷却液を送る。冷却装置40は、また、そのAC電力をトランス570からパーソナリティプラグ550の他の部分を経て受けとる。トランス550は、また、3つの調整された電力供給572, 498および574および1つの非調整電力供給576に電力を供給する。温度を測定する正確な目的のために、較正電圧発生器506は1系列の非常に正確な薄いフィルムの超低温度のドリフト $20\text{K}/\text{hm}$ の抵抗器(図47及び図48には示さない)を使用する。これらの同一の超低ドリフト抵抗を使用して、アナログ増幅器578のゲインをセットし、そしてアナログ増幅器578はデジタル値への変換前に選択した温度センサーからの出力電圧を増幅する。これらの抵抗器はわずかに $5\text{ppm}/^\circ\text{C}$ ドリフトするだけである。

【0149】すべての温度センサーは、それらを(それらが温度を測定する構造体から分離されている)をまず 40°C に温度制御された安定な攪拌された油の浴の中に配置し、そしてマルチブレクサ492への入力において実際のオプチクス電圧を測定することによって較正される。次いで、温度センサーを 95°C の温度の浴の中に配置し、そしてそれらの出力電圧を再び同一点において測定する。較正電圧発生器494の出力電圧は、また、マルチブレクサ494の入力において測定される。各温度について、温度センサーの出力の各と較正電圧発生器506により発生した電圧から生ずるデジタル出力との間のA/Dコンバータからのデジタル出力の差を測定する。次いで、温度変化について各々を較正するための各温度センサーのために較正定数を較正することができる。

【0150】次いで、試料ブロックの温度センサーを次の較正手順にかける。この手順は試料ブロックを2つの異なる温度に推進することを包含する。各温度レベルに

おいて、16の異なる試料ウェル中のブロックの実際の温度は、16のRTD熱電対のプローブを使用して0.02°C内で測定する。次いで、ブロックの温度についての平均のプロファイルを発生させ、そしてA/Dコンバータ464の出力は試料ブロック中のその場所においてブロック温度センサーを使用して測定する。これは両者の温度レベルにおいて実施する。RTDプローブで測定した実際のブロック温度およびブロック温度センサーのためのA/D出力について、それ以上の較正ファクターを計算することができる。そのように発生した温度の較正是バッテリーバックアップRAM458の中に記憶される。いったんこれらの較正ファクターがシステムのために決定されると、システムは較正の時に存在する電気的特性から認めうるほどドリフトしないことが重要である。したがって、低いドリフトの回路を選択し、そして超低ドリフト抵抗器を使用することが重要である。

【0151】CPU450が試料ブロック温度を制御する方法は、制御プログラムについて下に記載する選択を参照することによって最もよく理解することができる。しかしながら、図47及び図48の電子回路が制御ソフトウェアと共に動作してPCRプロトコルを実施する方法を示すために、次のことを考慮する。ゼロ交差検出器566は出力バス568の中に2つの出力を有する。これらの出力の1つは、ゼロ電圧参照を横切るAC信号の各ポジティブに行く転移についてネガティブに行くパルスを放射する。他のものはゼロ参照電圧レベルを横切るAC信号の各ポジティブに行く転移についてネガティブパルスを放射する。典型的には580で示すこれらの2つのパルスは1つの完全なサイクルまたは2つのハーフサイクルを定める。それは200ミリ秒の試料の期間を定めるバス568上のパルスのトレインである。米国におけるような60サイクル/秒のACについて、200ミリ秒は24のハーフサイクルを含有する。

【0152】典型的なシステム期間は図50に示す。図50中の各「チック」マークは1つのハーフサイクルを表す。各200ミリ秒の試料期間の間、CPU450はユーザが定めた設定点またはインキュベーション温度に試料ブロック温度を維持するために、あるいはPCRプロトコルの時間ラインにおいて特定の試料期間が存在する場所に依存する新しい温度にブロック温度が動かすために、必要な加熱または冷却の電力を計算している。各フィルムヒータゾーンにおいて必要な電力のマットは、各ヒータゾーンを次の200ミリ秒の試料期間の間に止まるハーフサイクルに変換される。これらの計算を実施する現在の試料期間の終了直前に、CPU450はプログラム可能な間隔タイマ(PI T)472中の4タイマの各々をアドレスする。各タイマに、CPUはハーフサイクルの数を表す「現在の」カウントを構成するデータを書き、タイマに関連するヒーターゾーンは次の試料期間の中にはない。図50において、このデータは次の試料

期間の開始時間592に先立つ直前間隔590の間にタイマに対して書き込まれる。9.4°Cの変性温度までの急速なランプが、時間592と594との間の試料的間隔を包含する間隔でユーザーの設定点データにより要求されると仮定する。したがって、フィルムヒータはその期間のほとんどについてオンであろう。中央のゾーンヒータが試料期間の間の3つのハーフサイクルを除外してすべてについてオンであると仮定する。この場合において、CPU450は、間隔590の間の中央のゾーンヒータに関連するPIT472中のカウンターの中に3を書く。この書く操作は自動的にタイマに、中央のゾーンヒータを制御するバス592の特定の制御ライン上の「シャットオフ」信号を発生させる。この「シャットオフ」信号はPAL484に、中央のゾーンに関連するバス538中の信号ラインの特定の1つ上に「シャットオフ」信号を発生させる。次いで、トライアックドライバー530は次のゼロ交差、すなわち、時間592においてシャットオフする。PITはライン594上のポジティブゴーイングパルスのパルスのトレインをPAL484から受けとる。これらのパルスはPAL484による2ラインバス568上でゼロ交差パルスの、PAL484によりすべてのゼロ交差パルス上のポジティブゴーイングパルスおよび単一のライン、すなわち、ライン594上のすべてのゼロ交差においてポジティブゴーイングパルスへの翻訳である。中央フィルムヒータゾーンに関連するPIT472中のタイマは、そのクロックとしてライン594上のハーフサイクルマーキングパルスを使用してその現在の3のカウントからカウントダウンを開始する。第3ハーフサイクルの終わりにおいて、このタイマは0に到達し、そしてバス592上のその出力信号が状態を変化するようにさせる。このオフからオンへの状態の転移は図50に596で示されている。この転移はPAL484に伝えられ、これによりPAL484はバス538上の適当な出力信号の状態を変化させて、第3ゼロ交差でトライアックドライバー530をオンにスイッチする。好ましい実施態様におけるようにゼロ交差でトライアックをオンにスイッチすることによって、インジケータ(フィルムヒータの導体)を通して流れる高い電流のオフのスイッチングは回避されることに注意すべきである。これはラジオ周波数のインターフェレンスまたは他のノイズの発生を最小にする。各ハーフサイクルの位置を要求する電力の計算量に従いフィルムヒータにスイッチする技術は、また、別の実施態様として機能し得るが、この技術により発生するノイズのために好ましくないことに注意すべきである。

【0153】PIT472および474の他のタイマは、他のヒータゾーンおよび加熱されたカバーへ加えられる電力をCPUにより計算された電力に従い同様な方法で管理する。ランプ冷却は周辺インタフェース482を通して直接CPU450により制御される。各試料期

間の間に実施された加熱／冷却電力の計算がランプ冷却電力を必要とすることを示したとき、CPU450は周辺インタフェース制御装置（P I C）482をアドレスする。次いで、データワードは適当なレジスタの中に書きかれて出力ライン600を高く推進する。この出力ラインは1対の単安定マルチバイブレータ602および604をトリガし、これにより各マルチバイブレータは、それぞれ、ライン606および608上の單一のパルスを放射する。これらのパルスの各々は、ちょうど1アンペアおよびほぼ100ミリ秒のパルス期間の下でピーク電流を有する。これらのパルスの目的は、ランプ冷却流れを急速にオンにすることが非常に困難であるランプ冷却チャンネルを通る流れを制御するソレノイド弁コイルを推進させることである。ライン606上のパルスは、ドライバー610に、ソレノイド作動弁の1つのソレノイドコイルの1つの側に連結されたライン612を接地させる。コイル614の他方の端末は電力供給576からの+24ボルトのDCで電力供給「レール」616に連結されている。ワンショット602は1つの方向の流れのためのランプ冷却ソレノイド作動弁を制御し、そしてワンショット604は反対方向の流れのためのランプ冷却ソレノイド作動弁を制御する。

【0154】同時に、ライン600上のR COOL信号の活性化はドライバー618を活性化する。このドライバーは電流制限抵抗620を通してライン612を接地させる。この電流制限抵抗の値は、ライン622を通して流れる電流がソレノイド弁614を開かせて保持するために必要な保持電流に少なくとも等しいような値である。ソレノイドコイルは、ソレノイド作動弁をオンするために大きい電流を必要とするが、弁を開かせて保持するためには実質的に少ない電流を必要とするという特性を有する。ライン606上の100ミリ秒のパルスが止んだとき、保持電流のために抵抗器620およびドライバー618を通る接地接続のみを残して、ライン612を直接接地させる。ソレノイド弁614は1/2ランプ冷却管、すなわち、試料ブロックを通して1つの方向に冷却液を逆ぶ管、のみにおいて試料ブロックを通るランプ冷却冷却液の流れを制御する。他のソレノイド作動弁624は、対向する方向で試料ブロックを通る冷却液の流れを制御する。この弁は、ドライバー626および628、ワンショット604およびライン608により、ソレノイド作動弁614と全く同一の方法で駆動される。

【0155】ランプ冷却の必要性は試料期間毎に1回評価される。ブロック温度を測定しそしてそれをランプ冷却がもはや必要ではない所望のブロック温度と比較することによって、制御ソフトウェアのP I Dタスクが決定されたとき、ライン600上のR COOL信号が不活性化される。これは、CPU450により、P I C482をアドレスし、そしてライン600に連結されたP I C

482中のレジスタ中の適当なビットの状態を逆転するデータをそれに書き込むことによって実施される。P I T474は、2つの他のタイマを有し、これらは20Hzの割り込みおよび加熱L E Dを計時し、加熱L E Dは試料ブロックが熱く接触すると危険であるときに視的指示を与える。システムは、また、ビーパーワンショット630およびビーパー632を含んで、不正確なキーストロークがなされたときにユーザーに警告する。

【0156】プログラム可能な割り込み制御装置476を使用して、レベル1—テスト；レベル2—20Hz；レベル3—トランスマット・レディ；レベル4—レシーブ・レディ；レベル5—キー・ボード・割り込み；レベル6—メインヒータ・ターンオン；および、レベル7—ACラインのゼロ交差からなる7の割り込みを検出する。プログラム可能な割り込み制御装置482は、マルチブレクサ492および494を制御するための4つの出力（図示せず）を有する。これらの信号「MUX1_E N」および「MUX2_E N」は、マルチブレクサ492および494の一方または双方を使用可能とするが、信号「MUV0およびMUV1は増幅器578への入力にどのチャンネルを選択するかを制御する。これらの信号は、2つのマルチブレクサからの1つのチャンネルのみを任意の1つの時間に選択できるように管理される。

【0157】「RLTRIG*」信号は、CPUが暴走する場合PAL484への信号「TIMEOUT_EN*」動作させてヒータの使用を禁止するヒータのタイムアウトワンショット632をリセットする。すなわち、ワンショット632は、所定の間隔を有し、該間隔は、各トリガ後、ワンショット632がすべてのヒータゾーンの使用を禁止する信号「TIMEOUT_EN*」を動作させる前に待機する時間である。CPU450はルーチンを周期的に実行し、これはP I C482をアドレスし、そしてデータを適当なレジスタに書き込んで、ライン634上の信号を動作してワンショット632をトリガする。CPU450がなんらかの理由で「暴走」し、そしてこのルーチンを実行しない場合、タイムアウトワンショット632はすべてのヒータゾーンの使用を禁止する。

【0158】P I C482は、また、加熱されたカバーおよびサンプルブロックヒータを使用可能にするための出力COVHTR_EN*およびBLKHTREN*（図示せず）を有する。これら両信号は低く活性化し、そしてCPU450により制御される。それらはバス636を経てPAL484へ出力される。P I C482は、また、信号BEEPおよびBEEPCLR*をバス640に出力してビーパーワンショット630を制御する。P I C482は、また、信号MEM1（図示せず）を出力し、この信号はEPROM456の高いアドレス区画とバッテリーRAM458の低いアドレスとの間のページをスイッチするために使用される。2つの他の信

号PAGE SEL0、およびPAGE SEL1（図示せず）は、EEPROM456中の4つの16Kページの間を選択する出力である。

【0159】4つの温度センサーは、10mV/°Kのゼナー電圧/温度依存性を有するナショナル LM 135ゼナーダイオード型のセンサーである。ゼナーダイオードは、20Kの抵抗器496により調整された電力供給498により動作する。ゼナーを通る電流は、0°C～100°Cの操作範囲にわたってほぼ560μA～615μAの間で変化する。ゼナーそれ自体の加熱は、同一の操作範囲にわたって1.68mW～2.10mWの間で変化する。伝送制御装置（マルチプレクサ）492および494は、DG409アナログスイッチである。ライン488および490上の電圧は、 $V_{out} = 3 * V_{in} - 7.5$ の伝達関数を有するAD625KN計器増幅器により増幅される。A/D変換器486は、0Vから5Vの入力範囲を有するAD7672である0°C～100°Cにわたって2.73～3.73のゼナー温度センサーの出力で、増幅器578の出力は0.60ボルト～3.69ボルトであり、これはA/D変換器の入力範囲内に入る。

【0160】高度に精確なシステムを実施する上で重要なことは、すぐれた精度および周囲温度の変化によるドリフト量が少ないとある。これらの両者は、精密な電圧基準源、すなわち、較正電圧発生器506を使用し、そして、温度センサーの出力、およびライン510上のACライン電圧をモニターするために使用される同一のエレクトロニクスの連鎖を通じて連続的にモニタすることによって達成される。

【0161】較正電圧発生器506は、ライン650および652上に2つの精密な電圧を出力する。一方の電圧は3.75ボルトであり、そして他方は3.125ボルトである。これらの電圧は、抵抗器間の0.05%の合致および抵抗器間の5ppm/°Cの温度ドリフト量を有する、一連の一体化された薄膜超低ドリフト抵抗器を使用して、調整された供給電圧を分割することによって得られる。較正電圧発生器は、また、A/Dコンバータ基準電圧に対して-5ボルト、計器増幅器オフセットに対して-7.5ボルトを発生する。これらの2つの電圧は、ライン（図示せず）によりA/D486、および増幅器578に伝えられる。これらの負の電圧は、同一薄膜基準抵抗器のネットワークとOP27GZオペアンプ（図示せず）を使用して発生される。操作増幅器578のためのゲイン設定抵抗器は、また一体化された超低ドリフト薄膜整合抵抗器である。

【0162】制御ファームウェア、制御エレクトロニクスおよびブロックの設計は、PCRプロトコルのウェル対ウェル、および計器対計器の輸送性が可能であるように設計される。処理能力の高い実験室は、実験室の広い範囲の人員に使用容易であり、かつ必要とする訓練が最小である計器を使用している。本発明のためのソフトウ

エアは、複雑なPCRサーモサイクリングのプロトコルを取り扱うと同時に、プログラムが容易であるように開発された。さらに、それは電力の中断の間の試料の統合性を保証するような安全装置をもって提供され、そして安全な記憶装置の中に各ランの詳細な事象を書き込むことができる。

【0163】システムが適切に作動していることを保証するために、図54～図57に示したパワーアップ自己検査を完結した後、本発明のユーザインターフェースは、ファイルを実行し、作成しましたまたは編集し、あるいはユーザイリティファンクションをアクセスするようにユーザを案内する、簡単なトップレベルのメニューを提供する。プログラミングの技能は要求されない。なぜなら、前以て存在する不足のファイルは個別化した時間および温度を使用して編集し、次いで後の使用のために記憶装置に記憶することができるからである。ファイル保護システムが許可なくプログラムを変更させることを防止するファイルは、通常、所望の温度を保持するか、あるいはサーモサイクリングするための一連の命令から成る。複雑なプログラムは、ファイルと一緒にリンクしてある方法を形成することによってつくられる。共通に使用されるファイル、例えば、サーモサイクル後の4°C保温培養（インキュベーション）は、他のユーザにより作成された方法に、記憶され、そして組み込むことができる。新しい型のファイル、AUTOファイルはPCRサイクリングプログラムであり、パラメータを制御するいくつかの型の変化、つまり時間の増加（オートセグメントの伸長、収率の増大するため）、時間の減少、または温度の増加または減少が各サイクルを起こすかを特定できるようになっている。最高の制御精度および最も信頼性がある方法の転送のために、温度は0.1°Cで安定しており、そして時間は最も近い秒にプログラミングされる。本発明は1回の実行中に1つまたは2つ以上の設定点において、特定したサイクルにおける試薬の添加および管の取り出しのための、定期的PAUSEをプログラミングする能力を有する。

【0164】本発明のシステムは、各実行について500の記録履歴を記憶する能力を有する。この特徴により、各サイクルにおいて個々のステップを見直し、そして不規則性に関する特別の状態または誤ったメッセージを知らせることができる。オプショナルのプリントを使用して、本発明はファイルおよび方法のパラメータ、時間/日付のスタンプを有する実行時間、時間/温度のデータ、形状パラメータ、および分類されたファイルの記録のハードコピーを提供する。

【0165】再現性あるサーモサイクリングを保証するために、演算された試料の温度は各サイクルのランプ制御期間および保持制御期間の間に表示される。セットした温度より1度低い温度を通常使用してランプ時間および保持時間のクロックをトリガするが、これはユーザに

より変更することができる。管の型および体積についての適切な時間を使用すると、長いまたは短い保温培養時間がプログラミングされるかどうかに無関係に、試料は、常に、同一精度で所望の温度に到達する。ユーザは変性されたプライマーブールの特殊化されたアニーリングの要件、または非常にGCに富んだ標的のために非常に短い(1~5秒)高温の変性についてゆっくりしたランプをプログラミングすることができる。情報(インターリジメント)の欠乏は2および3温度のPCRサイクルについて前以てプログラミングされる。

【0166】診断試験をアクセスして、加熱および冷却のシステムの状態をチェックすることができる。なぜなら、ソフトウェアが成功/失敗を表示するからである。さらに、システム実行のプログラムは、包括的なサブシステムの評価を実施し、そして簡単に状態を表示する。制御ファームウェアは、以下に列挙するいくつかのセクションから構成される：

- 診断
- 調正
- 導入(インストール)
- 実時間運用システム
- システムを管理する9つの序列化されたタスク
- 起動シーケンス
- ユーザインタフェース

ファームウェアの種々のセクションを、原文通りの記述、擬似コードまたは両者で記述する。

【0167】ファームウェアの特徴は、次の通りである：

1. 試料ブロック平均温度を+/-0.1°Cに管理すると共に試料ブロック中のウェルの間の温度の不均一性を+/-0.5°C内に維持する制御システム。
2. ライン電圧の変動、並びに電子温度ドリフト量を測定し、補償する温度制御システム。
3. システムの各要素が作動しているか否かを、決定する広範なパワーアップ診断。
4. 加熱および冷却のシステムが適切に動作しているか否かを評価する、導入(インストール)プログラムにおける包括的な診断。
5. オペレーターのマニュアルの使用を最小にして計器の操作を可能とするメニュー・システムを使用する、論理、および編成されたユーザのインタフェース。
6. 17までのPCRプロトコルをリンクして、それらを1つの方法として記憶する能力。
7. 150までのPCRプロトコル、および方法をユーザのインタフェースの中に記憶する能力。
8. シーケンスタスクの一部分として前回の実行の500までの事象をレコードする履歴ファイル。
- 【0168】9. 最高温度の精度、および制御のために、実行開始の反応体積および管の寸法、型をユーザのインターフェースの一部分として決定し、PIDタスクに

おけるタウ(管の時間定数)を変更する能力。

10. 停電から回復するまで、システムは試料ブロックを4°Cに維持して、試料隔室の中に入れる試料を保管する。アナライザーは、また、シーケンスタスクの一部分として停電の期間を表示する。

11. 履歴ファイルの内容、「実行時間」パラメータ、および記憶されたPCRプロトコルのパラメータをプリントタスクの一部としてプリントする能力。

下に記載する診断のいくつかのレベルが存在する：一連のパワーアップ試験は、計器がオンにされる毎に、自動的に実施される。それらはユーザの介在なしにハードウェアのクリティカル領域を評価する。成分の故障を検出するテストを再び実行することができる。テストが2回失敗した場合、エラーのメッセージは表示され、そしてキーボードは電子的にロックされて、ユーザが続けるのを防止する。

【0169】次の領域を試験する

プログラム可能な周辺インタフェース装置
バッテリーRAM装置
バッテリーRAM検査合計
EPROM装置
プログラム可能なインターフェースタイマ装置
ロック/カレンダー装置
プログラム可能な遮断制御装置
アナログ対デジタルセクション
温度センサー
適切な構成プラグの検証

【0170】一連のサービスオンリー診断は、製造業者の場所における最後のテスターに、あるいは「隠れた」キーストロークシーケンス(すなわち、カスタマーに未知の)によりフィールドサービスエンジニアにとって利用可能である。試験の多くは、99回まで連続的に実行することができる以外、診断を開始するときの試験と同一である。

【0171】次の領域を試験する

プログラム可能な周辺インタフェース装置
バッテリーRAM装置
バッテリーRAM検査合計
EPROM装置
プログラム可能なインターフェースタイマ装置
ロック/カレンダー装置
プログラム可能な遮断制御装置
アナログ対デジタルセクション
RS-232セクション
ディスプレイセクション
キーボード
ビーパー
除冷弁
EPROM不一致のチェック
ファームウェアのバージョンレベル

バッテリーRAM検査合計および初期化
自動開始プログラムフラッグ
較正フラッグのクリア
加熱されたカバーヒータおよび制御回路
端部ヒータおよび制御回路
マニホールドヒータおよび制御回路
中央ヒータおよび制御回路
試料ブロックの熱的カットオフ試験
加熱されたカバーの熱的カットオフ試験

【0172】ユーザの診断を使用して急速な冷却、加熱ランプの検証、および加熱、冷却システムの広範な検証を実施することができる。これらの診断により、前回の実行において生じた事象の順次記録である履歴ファイルを検査することができる。該記録は、時間、温度、設定点の数、サイクルの数、プログラムの数および状態のメッセージを包含する。

【0173】遠隔診断により、RS-232ポートを介して外部のコンピュータからシステムを制御することができる。該制御は、サービスの診断と計器の較正のみに限定される。種々のパラメータ、例えば、ヒータの抵抗等を決定するための校正を実施する。較正スクリーンに対するアクセスは、「隠れた」キーシーケンス（すなわち、カスタマーに未知である）により制限される。次のパラメータを較正する：構成プラグは、冷却装置と、試料ブロックヒータと、冷却液ポンプと、適切な電圧、周波数（100V/50Hz, 100/60Hz, 120/60Hz, 220/50Hzまたは230/50Hz）の電源とを再配線するモジュールである。ユーザは、導入した構成プラグの型を入力する。ファームウェアは、この情報を使用して試料ブロックのヒータの等価抵抗を演算する。パワーアップに際し該システムは、選択された構成プラグが電流ラインの電圧および周波数と一致していることを検証する。

【0174】ヒータの抵抗は、供給されるヒータ電力を正確に演算できるように、校正プロセスにおいて決定しなくてはならない。ユーザは6つの試料ブロックヒータ（2つの主ヒータ、2つのマニホールドヒータおよび2つの端部ヒータ）の実際の抵抗値を入力する。構成プラグは、ヒータを220/230VACオペレーションについて直列に、そして100~120VACオペレーションについて並列に配線する。ファームウェアは、次の式により3つのヒータの各々の同等の抵抗を演算する：

$$(7) 100 \sim 120 \text{ VAC} \text{ について: } R_{eq} = (R_1 * R_2) / R_1 + R_2$$

$$(8) 220 \sim 230 \text{ VAC} \text{ について: } R_{eq} = R_1 + R_2$$

等価抵抗を使用して試料ブロックへの正確な加熱電力を導く（電力=電圧² × 抵抗）。

【0175】A/D回路の校正は、温度を正確に測定できるようにするために必要である。該校正は2つの試験

点の電圧（CPUボード上のTP6およびTP7）を測定し、そして測定された電圧を入力することによって実施される。各電圧におけるA/Dの出力は2点の校正曲線の基礎をなす。これらの電圧は、5ボルトの精密電源から導かれ、正確であり、そして温度依存性がある。各実行の開始において、これらの電圧は温度による電子的ドリフトを測定するシステムにより読まれる。なぜなら、A/D出力の変化はアナログチェイン（マルチブレーカ、アナログ増幅およびA/Dコンバータ）における温度依存性を有するからである。4つの温度センサー（試料ブロック、周囲、冷却液および加熱されたカバー）の校正是、正確な温度測定について実施される。計器の中へ設置する前に、周囲、冷却液および加熱されたカバーの温度センサーは水浴の中に配置され、ここでそれらの出力は記録される（YYYYmVにおけるXX.X °C）。次いで、これらの値をシステムに入力する。これらの領域における温度の精度は重大ではないので、1点の校正曲線を使用する。

【0176】試料ブロックのセンサーを計器中で校正する。15の正確な温度プローブの配列は、好ましい実施態様において試料ブロックの中に計画的に配置する。温度プローブの出力を集め、そしてコンピュータにより平均する。ファームウェアはブロックが40°Cとなるよう指令を出す。短い安定化期間後、15のプローブにより測定された温度の平均のブロック温度を入力する。この手順を95°Cにおいて反復して2点の校正曲線を形成する。AC対DCライン電圧のサンプリング回路の校正は、2点の校正曲線を形成する2つの所定のAC入力電圧についてのAC対DC回路の出力をシステムに入力することによって実施される。回路の出力は要求される範囲（90~260VAC）にわたって非線形であり、したがって各端（100, 120, 220, 240VAC）において2点を必要とするが、電流入力電圧に基づいて1セットを使用する。

【0177】AC電圧の正確な測定値は、正確な電力を試料ブロックへ供給するために必要である（電力=電圧² × 抵抗）。導入プログラムは、冷却および加熱システムの広範な試験を実施する診断道具である。導入プログラムの測定値および演算値は、冷却熱伝導係数、10°Cおよび18°Cにおける除冷熱伝導係数、10°Cおよび20°Cにおける冷却電力、試料ブロックの熱容量と、冷却液の容量、および試料ブロックのセンサー遅れを制御する。導入プログラムの目的は以下の3点である。

1. 限界の或いは故障の成分を明らかにする。
2. 測定された値のいくつかをバッテリーバックアップRAMの中に記憶されたシステム定数として使用して、所定の計器についての制御システムを最適化する。
3. 経時的加熱および冷却システムの規模縮小を測定する。

【0178】システムを輸送する前に、導入プログラム

を実行すると共に、使用前に、或いは主要な成分が置換されたときはいつでも実行すべきである。導入プログラムは、また、ユーザの診断の下でユーザにより実行可能である。ヒータのピング試験により、ヒータが電流ライン電圧に対して適切に構成されることを検証する（すなわち、90～132VACについて並列および208～264VACについて直列）。ファームウェアは1バーストの電力を試料ブロックに供給し、次いで10秒間の温度上昇をモニターする。温度上昇が特定したランプ速度のウインドー外にあるならば、ヒータは電流ライン電圧について不正確に配線されており、導入プロセスは停止される。

【0179】制御冷却熱伝導係数試験は試料ブロックを横切る制御冷却メッセージへの熱伝導係数K_{cc}を測定する。この試験はまず試料ブロック温度を60°Cとし（除冷弁を開じる）、次いでブロックを30秒間60°Cに維持するために要求されるヒータ電力を積分する。積分された電力を前記時間間隔におけるブロック温度と冷却液温度との間の差の合計で割る。

(9) $K_{cc} = \Sigma \text{ヒータ電力} (60^\circ\text{C}) / \Sigma (\text{ブロック冷却液温度})$

典型的な値は1.40～1.55ワット/°Cである。低いK_{cc}は内張の閉塞を示す。高いK_{cc}は、完全に閉じていない除冷弁、内張の外側への冷却液の漏れ、または内張が外れているためであることが考えられる。

【0180】ブロックの熱容量(B1k Cp)試験は、まずブロックを35°Cに制御し、次いで最大電力をヒータへ20秒間加えることにより、試料ブロックの熱容量を測定して実施される。試料ブロックの熱容量は、積分された電力/ブロック温度の差に等しい。精度を増加するために、バイアス冷却の電力の作用は増加された電力から減ずる。

(10) ブロックの熱容量=ランプ時間* (ヒータ電力-制御冷却電力) / Δ温度

ここで、

ランプ時間=20秒、

ヒータ電力=500ワット、

制御冷却電力=(Σブロック温度-冷却液温度)*K_{cc}

Δ温度=ブロック温度₁₊₂₀-ブロック温度₁₊₀

ブロックの熱容量の典型的な値は540ワット秒/°C±30である。正常のK_{cc}値の場合、ブロックの熱容量の増加は例えば、フォームのパッキング中の湿気、試料ブロックの回りの絶縁損失、またはヒータ電力の減少等の熱的負荷の増加のためであり、前記ヒータ電力の減少は、例えば、6個のヒータゾーンの1つの故障、ヒータゾーンを推進する電子回路の故障、或いは不正確さ、不正確に配線されている電圧構成モジュール等による。

【0181】冷却テストは、10°Cおよび18°Cにおけるシステム冷却出力(ワット)を測定する。所定の温度におけるシステム冷却電力または冷却出力は、その温度

における熱的負荷の合計に等しい。主な成分は次の通りである。1. 所定の温度にブロックを維持するために要求される加熱電力、2. システムの回りに冷却液を循環させるために使用されるポンプが放散する動力、および3. 冷却液ラインにおける周囲への損失。電力パラメータは、冷却液の温度を10°Cまたは18°Cに制御し、そして32秒間にわたって一定の冷却液温度に維持するために加えられる電力を積分することによって測定させる。ブロック温度と冷却液温度との間の差を積分して周囲温度への損失を演算する。

(11) 冷却温度=Σ加熱電力+ポンプ動力+(周囲への熱伝導係数*Σ(ブロックの温度-冷却液の温度))ここで、

加熱電力=冷却液を10°Cまたは18°Cに32秒の時間にわたって維持するために要求される加熱電力の合計

ポンプ動力=循環ポンプの動力であって12ワット

周囲への熱伝導係数=20ワット/°C

Σ(ブロックの温度-冷却液の温度)=32秒の時間にわたるブロックおよび冷却液温度の差の合計

【0182】冷却電力のための典型的な値は、10°Cにおいて230ワット±40および18°Cにおいて370ワット±30である。低い冷却電力は、ファン通路の障害、欠陥のあるファン、または冷却装置の限界、或いは故障のためである。それは、また、電圧構成プラグの誤配線であることがある。除冷熱伝導係数(K_c)試験は、10°Cおよび18°Cにおける試験ブロックを横切る除冷経路および制御冷却経路への熱伝導係数の測定により実施される。このテストは、まず冷却液温度を10°Cまたは18°Cに制御し、次いで、30秒間所定の温度に冷却液を維持するために要求される加熱電力をその時間にわたるブロック温度および冷却液温度の差を積分した値で除することによって実施される。

(12) 除冷熱伝導係数(K_c)=Σ加熱電力/Σ(ブロック温度-冷却液温度)

K_cについて典型的な値は、10°Cにおいて28ワット/°C±10°C、18°Cにおいて31ワット/°C±3°Cである。K_cの値が小さいときは、除冷弁が閉じられている場合や閉塞している場合、冷却液管に障害がある場合、ポンプが小さい場合、あるいは硬水にプレストン(登録商標)が混合されている場合が考えられる。

【0183】センサー遅れ試験は、まずブロック温度を35°Cに制御し、次いで500ワットのヒータ電力を2秒間加え、そしてブロックを1°C上昇するために要求される時間を測定することによって、ブロックセンサー遅れを測定する。典型的な値は1.3～1.6単位であり、ここで各単位は200ミリ秒に等しい。遅いまたは長いセンサー遅れは、センサーとブロックとの間接触不良、例えば、熱的グリースの欠如、センサー用に備えられた空洞の劣った機械加工またはセンサーの故障のためであることがある。

【0184】残りの導入試験は一般的に導入プログラムにより実行されるがそれらの診断目的は制限される。と言うのはそれらは、計算された値であるか、あるいは多数の変数を有する関数であるため、それらの結果が問題の根源を正確に決定しない関数であるためである。導入プログラムは18°Cと10°Cとの間の除冷熱伝導係数の勾配(S_c)を計算する。それは熱伝導係数曲線の直線性の測定である。それは、また、0°Cにおける除冷熱伝導係数を概算するために使用する。典型的な値は0.40±0.2である。値の広がりは、それが正に近似値であることを証明している。

$$(13) S_c = (K_{c,18^\circ} - K_{c,10^\circ}) / (18^\circ - 10^\circ)$$

導入プログラムは、また、冷却熱伝導係数($K_{c,0}$)を計算する。 $K_{c,0}$ は0°Cにおける冷却熱伝導係数であり、10°Cにおける実際のコンダクタンスから外挿される。典型的な値は23ワット/°C±5である。使用した式は次の通りである：

$$(14) K_{c,0} = K_{c,10^\circ} - (S_c * 10^\circ)$$

導入プログラムは、また、冷却液熱容量($Cool_C_p$)を計算し、この冷却液熱容量は、冷却液の全経路(冷却液、ポンピングライン、熱交換器、および弁)の熱容量の近似値である。冷却容量は、冷却液の中に熱を送る成分から冷却液から熱を除去する成分を減じた値に等しい。これらの成分を測定し、そして計算するために使用される機械は複雑であり、そしてソースコードの説明のセクションにおいて詳細に記載する。この測定にお*

```
if ({linevolts} > 190 Volts) then
    deliver 75 watts to heater
else
    deliver 300 watts to heater
```

10秒間時間上昇を測定する。この結果は0.01°/秒の平均の加熱速度である。

```
temp1=block temperature
wait 10 seconds
temp2=block temperature
{tempb}=temp2-temp1
```

制御冷却効果から平均加熱速度({tempb})を減じて※

```
if (linevoltage=220V and heat_rate >
0.30°/second) then
    Error->Heaters wired for 120
    Lock up keyboard
    if (linevoltage=120V and heat_rate <
0.30°/second) then
        Error->Heaters wired for 220
        Lock up keyboard
```

KCC試験擬似コード：この試験はKccとしても知られている制御冷却コンダクタンスを測定する。

【0186】Kccを60°Cのブロック温度において測定される。ブロックを60°Cに加熱。ブロック温度を60

*いて、冷却液は10°Cにおいて安定化している。最大ヒータ電力を128秒間試料ブロックに加える。

(15) 冷却液の熱容量=加熱源-冷却液源

(16) 冷却液の熱容量=加熱電力+ポンプ動力+周囲への熱伝導係数* (Σ 周囲温度- Σ 冷却液温度)
-ブロックの熱容量* (ブロック温度 $t=0$ -ブロック温度 $t=128$)

-ブロック温度 $t=0$ とブロック温度 $t=128$ との間の平均冷却電力

【0185】ヒータピング試験擬似コード：ヒータピング試験は、ヒータが電流ライン電圧のために適切に配線されていることを検証する。試料ブロックおよび冷却液を既知で安定な点にする。除冷弁をオンにする。ブロックと冷却液が5°C以下になるのを待つ除冷弁をオフにするブロック温度の低下を10秒測定することによって、制御冷却の冷却効果を測定する。測定を行う前に安定させるために10秒待つ。

```
wait 10 seconds
temp1=block temperature
wait 10 seconds
temp2=block temperature
{tempa}=temp2-temp1
実際に測定したライン電圧を含有する変数 {linevoltage} を検査する。190Vより大きいライン電圧について75ワットで、あるいは140Vより小さい場合300ワットでヒータをパルスする。
```

※真の加熱速度を計算する。

(17) heat_rate={tempb}-{tempa}

heat_rateを評価する。220~230Vについて、加熱速度は0.30°/秒より小さくなければならない。100~120Vについて、加熱速度は0.30秒より大きくなければならない。

℃に300秒間維持。試料ブロックのヒータへの印加電力を30秒間積分。ブロック温度を制御冷却バイアスで維持するために要求される電力を測定しあつ積分。

```

{dt_sum} = 0 (デルタ温度の合計)
{main_pwr_sum} = 0 (主ヒータ電力の合計)
{aux_pwr_sum} = 0 (補助ヒータの電力の合計)
for (count=1 to 30)
{
    {dt_sum} = {dt_sum} + (block_temperature
    - coolant_temperature)
    wait 1 sec

```

主ヒータおよび補助ヒータへの印加電力を積算。実際の * 計がされる。

コードは P I D 制御タスクにあり、200ミリ秒毎に合*

```

{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + {aux
ual_power}
{aux_pwr_sum} = {aux_pwr_sum} + {aux1_
actual} + {aux2_actual}
}

```

電力の合計値を温度の合計で割ることによってコンダクタンスを計算。単位は $10\text{mW}/^\circ\text{C}$ あることに注意。

(18) $K_{cc} = (\{main_pwr_sum\} + \{aux_pwr_sum\}) / \{dt_sum\}$

BLOCK CP 試験擬似コード: このテストは試料ブロックの熱容量を測定するものである。ブロックを 35°C

```

500ワット付与
{dt_sum} = 0
for (count=1 to 20 seconds)
{
    {dt_sum} = {dt_sum} + (block_temperature
    - coolant_temperature)
    wait 1 second
}

```

(19) $\Delta t_{temp} = block_temp - initial_temp$
ランプ制御の間の冷却制御系に基づく冷却電力のジュール熱を算出。

(20) $cool_joule = control_cooling_conductance (K_{cc}) * \{dt_sum\}$

主ヒータおよび冷却制御系からブロックへ加えられる全ジュール熱を算出。インターバル間での温度変化で割算★

```

count = 120
do while (count != 0)
{
    if (coolant_temperature =  $10 \pm 0.5^\circ\text{C}$ )
        then
            count = count - 1
    else
        count = 120
    wait 1 second
}

```

この時点において、冷却液は 120 秒の間 10°C に維持され、安定化が得られた。32秒にわたって、 10°C の

$^\circ\text{C}$ に加熱。ブロック温度を 35°C に 5 秒間を制御し、そして初期温度を記憶。

initial_temp = ブロック温度
最大電力をヒータに 20 秒間通電し、その間ブロック温度対冷却液温度の差ならびにヒータ電力を合計。

★することで容量を算出。

(21) $Block_Cp = ramp_time * (heater_power - cool_joule) / \Delta t_{temp}$

ここで: $ramp_time = 20$ 秒
 $heater_power = 500$ ワット
【0187】 COOL_PWR_10 : このテストは冷却電力を 10°C で測定するものである。冷却液温度を 10°C に制御し、かつ 120 秒間安定化とせよ。

冷却液温度を維持するための印加電力を積分。

```

{cool_init}          = coolant temperatu
                   re
{main_pwr_sum}     = 0
{aux_pwr_sum}      = 0
{delta_temp_sum}   = 0
for (count=1 to 32)
{
}

```

主ヒータおよび補助ヒータ加えた電力を積算。実際のコードは制御タスクにある。

```

{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + actu
                  al_power
{aux_pwr_sum}  = {aux_pwr_sum} + aux1_
                  actual+aux2_actual
delta_temp_sum=delta_temp_sum+(amb
                  ient temp-coolant t
                  emp)

wait 1 second
}

```

【0188】 積分間隔の間に冷却液質量に印加されたエネルギーのジュール数を計算。「(coolant temp-cool_init)」は積分インターバル間の冷却液温度の変化である。550はジュールで表わした冷却液のCpであり、従って積はジュールで表わされる。この積は冷却液に添加される余剰の熱を表し、この余剰の熱が冷却液を積分インターバル間に設定点からドリフトせしめる。この誤差は冷却電力の計算前に加えられた熱の合計から減算される。

(22) cool_init = (coolant temp-cool_init) * 550 J

主電力の合計を補助ヒータの合計に添加して、32秒間に失われるジュール熱を得る。32で割って毎秒の平均ジュール熱を得る。

(23) {main_pwr_sum} = ({main_pwr_sum} + {aux_pwr_sum} - cool_init) / 32

すべての冷却電力成分を合計することによって、10°Cにおける冷却電力を計算する。

(24) Power_10°C = main_pwr_sum + PUMP_PWR + (K_AMB * delta_temp_sum)

ここで：

{main_pwr_sum} = インターバル間でのヒータ電力の合計

```

{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + auxu
                  al_power
{aux_pwr_sum}  = {aux_pwr_sum} + aux1_
                  actual+aux2_actual
{dt_sum}       = {dt_sum} + (block temperatu
                  re-coolant temp)

wait 1 second
}

```

PUMP_PWR = 12ワット (冷却液の循環用のポンプ)

delta_temp_sum = summation of amb-coolant over interval

K_AMB = 20ワット/K (冷却系から周囲への熱コンダクタンス)

【0189】KC_10テスト擬似コード：このテストは10°Cでのランプ制御冷却コンダクタンスを計測するものである。冷却液温度を10°C±0.5に制御し、この状態を10秒間安定化。この時点において、冷却液は設定点をとり、この点に制御される。30秒の時間間隔にわたって、冷却液温度を10°Cに維持するためにヒータに加えられている電力を積分。ブロック温度と冷却液温度との間の差を合計。

```

{main_pwr_sum} = 0
{aux_pwr_sum} = 0
{dt_sum} = 0
for (count=1 to 30)
{
}

```

主ヒータおよび補助ヒータに加えられる電力を積算。実際のコードはPID制御タスクにあり。

【0190】

積算期間にわたってブロックに供給されたエネルギー(ジュール)を計算する。単位は0.1ワットである。

(25) $\{main_pwr_sum\} = \{main_pwr_sum\} + \{aux_pwr_sum\}$

ブロックによる電力合計を冷却液温度の合計で割って、ランプ制御冷却コンダクタンス($100\text{mW}/\text{K}$)を得る。

```

c o u n t = 1 2 8
d o   w h i l e ( c o u n t != 0)
{
    i f ( c o o l a n t   t e m p e r a t u r e = 1 8 ° C ± 0 . 5 ) t
h e n
    c o u n t = c o u n t - 1
e l s e
    c o u n t = 1 2 0
w a i t   1   s e c o n d
}

```

この時点において、冷却液は 18°C に120秒間維持され、安定化された。32秒にわたって、 18°C の冷却液※

```

{ cool_i n i t }           = c o o l a n t   t e m p e r a t u
                           r e
{ main_pwr_sum }          = 0
{ aux_pwr_sum }           = 0
{ delta_temp_sum }        = 0
f o r ( c o u n t = 1   t o   3 2 )
{

```

主ヒータおよび補助ヒータ加えられる電力を積算。実際のコードは制御タスクにある。

```

{ main_pwr_sum } = { main_pwr_sum } + a c t u
a l _ p o w e r
{ aux_pwr_sum } = { aux_pwr_sum } + aux1_
a c t u a l + aux2_a c t u a l
delta_temp_sum = delta_temp_sum + ( a m b
i e n t   t e m p - c o o l a n t   t e m p )
w a i t   1   s e c o n d
}

```

積分間隔の間に冷却液質量に添加されたエネルギーのジュール数を計算する。「(coolant temp-cool_i n i t)」は積分インターバル間の冷却液温度の変化である。550は冷却液のCp(ジュール)であり、従ってこの積はジュールを表わす。この積は冷却液に添加され余剰の熱を表し、これは冷却液を積分インターバル間に設定点からドリフトさせる。この誤差は冷却液電力の計算前に加えられた合計の熱から減算される。

(27) cool_i n i t = (coolant temp-cool_i n i t) * 550 J

主電力の合計を補助ヒータの合計に加算して、32秒で失われたジュール熱を得る。32で割って毎秒の平均ジュールを得る。

* (26) Kc_10 = {main_pwr_sum} / {dt_sum}

【0191】COOL PWRテスト擬似コード：このテストは冷却電力を 18°C で測定するものである。試料ブロックおよび冷却液を既知の安定な点にする。冷却液温度を 18°C に制御し、この状態を128秒間安定に保つ。

※温度を維持するために加えられる電力を積分。

= coolant temperature

= 0

= 0

= 0

for (count=1 to 32)

{

★【0192】

★

(28) $\{main_pwr_sum\} = (\{main_pwr_sum\} + \{aux_pwr_sum\} - cool_init) / 32$

すべての冷却電力成分を合計することによって、 18°C における冷却電力を計算。

(29) Power 18°C =main_power_sum+PUMP_PWR+(K_AMB*delta_temp_sum)

ここで：

$\{main_pwr_sum\}$ =インターバルでのヒータ電力の合計

PUMP_PWR=12ワット、冷却液循環用ポンプ
 δ_{temp_sum} =インターバル間でのamb-coolantの合計

$K_{AMB} = 20 \text{ ワット}/\text{K}$ (冷却系から周囲への熱的コンダクタンス)

【0193】 KC_18 テスト擬似コード：このテストはランプ冷却コンダクタンスを 18°C で測定するものである。冷却液温度を $18^\circ\text{C} \pm 0.5$ に制御し、この状態を 10 秒間安定とする。この時点において、冷却液は設定点にあり、この点に制御される。30秒の時間インターバルにわたって、冷却液温度を 18°C に維持するため

にヒータに加えられている電力を積分。ブロック温度と*

```
{main_pwr_sum} = {main_pwr_sum} + aux1
    al_power
    {aux_pwr_sum} = {aux_pwr_sum} + aux1_a
    ctual+aux2_actual
    {dt_sum} = {dt_sum} + (block_temperature
    re-coolant_temp)
    wait 1 second
}
```

合計期間にわたってブロックに供給されたエネルギー（ジュール）を計算する。単位は 0.1 ワットである。

(30) $\{main_pwr_sum\} = \{main_pwr_sum\} + \{aux_pwr_sum\}$

電力合計をブロック温度 - 冷却液温度の合計で割って、ランプ制御冷却コンダクタンス ($100 \text{ mW}/\text{K}$) を得る。

(31) $Kc_{18} = \{main_pwr_sum\} / \{dt_sum\}$

SENLAG テスト擬似コード：このテストは試料プロ*

```
secs=0
count=0
do while (TRUE)
{
    if (secs >= 2 seconds) then
        shut heaters off
    if (block_temperature - tempa > 1.0°C)
then
    exit while loop
    count=count+1
}
end do while
sensor lag=count
```

冷却液CP テスト擬似コード：このテストはシステム全体の冷却液容量を計算する。冷却液温度を $10^\circ\text{C} \pm 0.5$ に安定化せよ。メッセージを PID 制御タスクに送り、冷却液温度をその現在の値 (約 10°C) から 18°C

```
do with (coolant temperature < 12°C)
{
    wait 1 second
}
blk_delta = block_temperature
h2o_delta = coolant temperature
```

*冷却液温度との間の差を合計。

```
{main_pwr_sum} = 0
{aux_pwr_sum} = 0
{dt_sum} = 0
for (count=1 to 30)
{
```

【0194】 主ヒータおよび補助ヒータに加えられる電力を積算。実際のコードは制御タスクにあり。

※ックの検出遅れを測定する。

【0195】 ブロックを 25°C する。 $\pm 0.2^\circ\text{C}$ 内に 2 秒間保持し、次いでブロック温度を記憶。

```
{tempa} = block_temperature
500 ワットの電力を試料ブロックに供給。次の 2 秒間
500 ワットの電力を加え、そしてブロック温度を  $1^\circ\text{C}$ 
増加するためのループを取り繰り返しの量をカウントする。
各ループの繰り返しを 200 ミリ秒毎に実行し、そ
の結果実際の検出遅れは count × 200 ミリ秒に等
しくなる。
```

にまで直線的に変化させる。冷却液が 12°C を横切ることで、冷却液の CP の直線傾斜的変化を常に同一温度で開始させ、傾斜特性の開始を明瞭とさせる。初期周囲およびブロック温度に注意。

次の2分間、冷却液温度が18°Cにまで直線的に変化する間、冷却液温度および周囲温度と冷却液温度との間の*

```

{temp_sum} = 0
{cool_sum} = 0
for (count 1 to 128 seconds)
{
(32) {cool_sum} = cool_temp_sum + coolant
      temperature.
(33) {temp_sum} = ambient-coolant tempe
      rature
      wait 1 second
      count = count +
}

```

2分の期間にわたる温度変化を計算。

(34) {blk_delta} = block tem
perature - {blk_delta}
(35) {h2o_delta} = coolant t
emperature - {h2o_delta}
KChill、すなわち、10°C～20°Cの冷却液範囲にわたる冷却液温度をもつ冷却電力の変化速度を計算する。単位はワット/10°Cであることに注意。
(36) KChill = (Chiller Pwr @ 18°C - Chiller Pwr @ 10°C) ※

(39) Cp_Cool = (HEATPOWER * 128 + PUMP_PWR *
 128
 - Pwr_0°C * 128
 - Block_Cp * blk_delta
 + K_AMB * temp_sum
 - KChill * cool_temp_sum) / h
 20_delta}

ここで、

HEATPOWER = 500W (ブロックを加温し冷却液を加熱するために印加される電力。熱間隔は128秒であったので、それに128を掛算する)

PUMP_PWR = 12W (冷却液を循環させるポンプの電力×128秒)

Pwr_0°C = 0°Cにおける冷却電力×128秒、

Block_Cp = 試料ブロックの熱容量、

blk_delta = 加熱インターバル間のブロック温度の変化、

K_AMB = 20ワット/K (冷却系から周囲への熱的コンダクタンス)、

temp_sum = そのインターバルでの周囲温度 - 冷却液温度の1回/秒の合計、

h2o_delta = 加熱 (ほぼ6°C) の間隔にわたる冷却液温度の変化、

KChill = 冷却電力対冷却液温度の勾配、

cool_sum = 加熱間隔にわたる、冷却液温度、1回/秒、の合計。

実時間オペレーションシステム-CRETIN

*差を合計。

※ランプ冷却コンダクタンス対18°Cと10°Cの温度範囲の勾配であるScを計算する。単位はワット/10°C/10°Cである。

(37) Sc = (Kc_18 - Kc_810) / 8
ランプ冷却コンダクタンスの0°Cでの外挿値であるKc_0、を計算。

(38) Kc_0 = Kc_10 - (Sc * 10)
冷却液のCpであるCp_Coolを次の式により計算する:

CRETINは、タスクと呼ぶ他のソフトウェアのモジュールへシステムサービスを提供するスタンドアロン、マルチタスキングのカーネルである。タスクはInte 18085アセンブラーの中に書き込まれたある時間クリティカル領域をもつ「C」ランゲージで書き込まれる。各タスクはプライオリティレベルを有し、そして独立のファンクションを提供する。CRETINは、スタートアップ診断が首尾よく実行された後の、低い記憶およびランにある。CRETINはタスクのスケジューリングを取り扱い、そして一度に1タスク/ランのみを可能とする。CRETINは、すべてのハードウェアの割り込みを受けとり、こうして適切な割り込みが受けとられたとき、待つタスクを実行させる。CRETINは実時間クロックを提供して、タスクがタイムド事象を待つか、あるいは既知の間隔の間ポーズすることができるようにする。CRETINは、また、メッセージノードのシステムを通るタスク間コミュニケーションのコミュニケーションを提供する。ファームウェアは、下記にプライオリティの順序で以下に簡単に記載する9つのタスクから構成されている。引き続くセクションは各タスクを

より詳細に記載する。

【0196】1. 制御タスク (PID) は試料ブロック温度を制御する。

2. キーボードタスクはキーパッドからのキーボードの入力を処理する。

3. タイマのタスクは半分の第2ハードウェアの割り込みを待ち、次いでウェイクアップメッセージを両者のシーケンスおよびディスプレイタスクに送る。

4. シーケンスのタスクはユーザのプログラムを実行する。

【0197】5. ポーズのタスクは、プログラムが実行されているとき、プログラミングした、キーパッドのポーズを取り扱う。

6. ディスプレイのタスクは実時間で表示を更新する。

7. プリンタのタスクはRS-232のポートのコミュニケーションおよびプリントを取り扱う。

【0198】8. LEDタスクは加熱LEDを推進する。それは、また、導入を実行しているとき、冷却液温度の制御に使用される。

9. リンクのタスクはキーストロークをショミレーションすることによってある方法と一緒にリンクされるファイルを開始する。

ブロック温度制御プログラム (PIDタスク)

比例整数部差分 (PID) タスクは、絶対試料ブロック温度を0. 1°Cに対応に制御しならびに、より多くの加熱電力をブロックの周辺に加えてガードバンドのへりを通る損失を補償することによって、試料ブロック温度の不均一性 (TNU、最も熱いウェルの温度 - 最も冷たいウェルの温度として定義される) を±0. 5°Cに制御する。PIDのタスクは、また、加熱されたカバーの温度をより少ない精度に制御する。このタスクは5回/秒を実行し、そして最高のプライオリティを有する。

【0199】試料ブロックへ供給される加熱電力または冷却電力の量は、記憶装置に記憶されたユーザが特定した試料温度、設定点と呼ぶ、及び現時点の計算されたサンプル温度と現在の試料温度との差または「誤差」から誘導される。この方式は標準のループ制御の実施を可能とする。現在の誤差に直接比例するフィルムヒータへの電力の寄与、すなわち、比例成分、(設定点の温度 - 試料ブロック温度) に加えて、計算した電力トランスは、また、静止の誤差 (設定点の温度 - ブロック温度 < 0. 5°C) に近くなる働きをする整数項を組み込む。この成分は整数成分と呼ぶ。整数項の累積又は「ウインドアップ」を回避するために、整数の寄与は設定点の温度付近の小さいバンドに制限される。比例および整数成分のゲインは、注意して選択されそしてテストされる。なぜなら、ブロックセンサーおよび試料管に関連する時定数は、システムの位相の余裕をきびしく制限し、よってループの不安定性についてのポテンシャルをつくりだすからである。比例項のゲインは下記の方程式 (46) に

おけるPであり、そして整数項のゲインは下記の方程式 (48) におけるKiである。

【0200】PIDタスクは「制御されたオーバーシュートのアルゴリズム」を使用し、ここで試料温度がその所望の温度に出来るだけ急速に到達するように、ブロック温度はしばしばその最後の定常状態にオーバーシュートする。オーバーシュートのアルゴリズムの使用は、制御された方法でブロック温度をオーバーシュートさせるが、試料温度をオーバーシュートさせない。これは電力を節約し、そしてPCR計器において新しいと信じられる。所望のランプ速度を達成するために試料ブロックのすべてのヒータへ供給される合計の電力は、次の式により与えられる：

$$(40) \text{電力} = (C_P / r_{mp_rate}) + \text{バイアス}$$

ここで、

C_P = ブロックの熱的質量

バイアス = バイアスまたは制御冷却電力

$$r_{mp_rate} = T_{final} - T_{initial} / \text{所望のランプ速度}$$

この電力は安全性のために加熱電力500ワットの最大にクランプされる。

【0201】タスクの繰り返し毎に (200毎に)、システムは次のアルゴリズムに基づいて加熱またはランプ冷却電力 (必要に応じて) を供給する。制御システムは計算された試料温度により駆動される。試料温度は、試料ブロックのウェルの1つ (以後「ブロック」) の中に配置された薄い壁のプラスチック試料管中の液体の平均温度として定義される。システム (試料管およびその内容) の時定数は管の型および体積の関数である。ランの開始において、ユーザは管の型および反応体積の量を入力する。システムは生ずる時定数 (τ またはtau) を計算する。マイクロアンプ (登録商標) 管および100 μ lの反応体積について、タウ (tau) はほぼ9秒である。

$$(41) T_{blk-new} = T_{blk} + Power * (200ms / C_P)$$

$$(42) T_{temp-new} = T_{temp} + (T_{blk-new} - T_{temp}) * 200ms / tau$$

ここで、

T_{blk-new} = 現在のブロック温度

T_{blk} = 200ミリ秒前のブロック温度

Power = ブロックに供給した電力

C_P = ブロックの熱的質量

T_{temp-new} = 現在の試料温度

T_{temp} = 200ミリ秒前の試料温度

tau = センサーの遅れについて調節した、試料管の熱的時間定数 (約1. 5)

エラーの信号または温度は、単に、次に通りである：

$$(43) \text{エラー} = \text{設定点} - T_{temp-new}$$

閉じたループのシステムとして、正しい作用 (加熱また

は冷却電力) は現在のエラーの部分を閉じる。以下の方程式 (45) において、F は 1 つの試料期間 (200 ms) において閉じるエラー信号のフラクションである。

$$(44) T_{\text{sample-new}} = T_{\text{sample}} + F * (S P - T_{\text{sample}})$$

ここで、SP = ユーザの設定点の温度

システムにおける大きい遅れ (長い管の時定数) のために、フラクションの F は下にセットされる。式 (42) および (44) を組み合わせると:

$$(45) T_{\text{sample-new}} = T_{\text{sample}} + (T_{\text{blk-new}} - T_{\text{sample}}) * .2 / \tau_{\text{au}} = T_{\text{sample}} + F * (S P - T_{\text{sample}})$$

式 (41) および (45) を組み合わせ、そして項 P (比例項のゲイン) を加えて、ブロック温度の振動を制限し、そしてシステムの安定性を改良すると:

$$(46) P_{\text{wr}} = C P * P / T * ((S P - T_{\text{sample}}) * F * \tau_{\text{au}} / T + T_{\text{sample}} - T_{\text{blk}})$$

ここで、

P = 比例項のゲイン、

T = 0.2 秒 (200 ミリ秒) の試料期間、そして P/T = 好ましい実施態様において 1。

方程式 (46) は、ガードバンドなどを通して周囲への損失なしに、ブロック温度をある所望の温度に動かすために必要な電力 (P_{wr}) を与える、理論的方程式である。

【0202】いったんブロックを駆動するために必要な電力が方程式 (46) により決定されると、この電力はこれらのゾーンの領域によって 3 つのヒータゾーンの各々に供給される電力に分割される。次いで、マニホールドへの損失が決定され、そしてこれらの損失を補償するために十分な大きさを有する電力項はマニホールドのヒータゾーンへ供給すべき電力量へ加えられる。同様に、ブロックの支持ピン、ブロック温度センサーおよび周囲への電力損失を補償するために十分な他の電力項は、へりヒータゾーンへ供給すべき電力に加えられる。これらの追加の項およびゾーン領域による電力の分割は、方程式 (46) を前述の方程式 (3), (4) および (5) に変換する。

【0203】方程式 (46) は、試料ブロックに対して要求される加熱または冷却電力を決定するために制御システムの好ましい実施態様により使用される式である。計算された試料温度が「整数バンド」、例えば標的温度

(SP) 付近の ± 0.5 °C、内にあるとき、比例項のゲインは残りのエラーを閉じるために小さ過ぎる。したがって、整数項を比例項に加えて、小さいエラーを閉じる。整数項は整数項の外側で無能化して、大きいエラー信号が蓄積するのを防止する。「整数バンド」の内側のアルゴリズムは、次の通りである:

$$(47) \text{Int_sum(new)} = \text{Int_sum}(old) + (S P - T_{\text{sample}})$$

$$(48) p_{\text{wr_adj}} = K_i * \text{Int_sum}(new)$$

ここで、

$\text{Int_sum} = SP$ と T_{sample} 温度との間の試料期間の合計、

K_i = 整数ゲイン (好ましい実施態様において 51.2)。

いったん加熱電力が計算されると、制御ソフトウェアは好ましい実施態様に基づいて図 13 における 3 つのフィルムヒータゾーン 254, 262 および 256 に、電力を分布させる。へりヒータはブロック温度と周囲温度との間の差に基づいて追加の電力を受けとる。同様に、マニホールドのヒータはブロック温度と冷却液温度との間の差に基づいて追加の電力を受けとる。

P I D 模似コード

システムのパワーアップまたはリセットのとき、ランプ冷却をオフにする

すべてのヒータをオフにする

ヒータの抵抗を計算する

フェエバー命令 (do forever) - 200 ミリ秒毎に実行する

(ブロック温度 > 105) の場合、

ヒータをオフにする

ランプ弁をオンにする

エラーメッセージを表示する

ライン電圧 (linevolts) を読む

冷却液センサーを読みそして温度 {h2otemp} に変換する

周囲センサーを読みそして温度 {ambtemp} に変換する

加熱されたカバーのセンサーを読みそして温度 {cvrtemp} に変換する試料ブロックのセンサーを読みそして温度 {blktemp} に変換する。コードのこの部分は、また、温度安定基準電圧を読み、そしてこの電圧を計器の較正の間に決定された基準電圧と比較する。

不一致が存在する場合、エレクトロニクスはドリフトそして温度センサーからの電圧の読みは正確な温度の読みに従って調整される。試料温度 {tubetenth} 若しくはローパスディジタルフィルターを使用して表示された獲得温度を計算する。

$$(49) tubetenth = TT_{n-1} + (TB_n - TT_{n-1}) * T / \tau_{\text{au}}$$

ここで、
 TT_{n-1} = 最後の試料温度 {tubetenth}、
 TB_n = 現在のブロックセンサー温度 {blktemp}、

T = 試料間隔 (秒) = 200 ミリ秒、

$$\tau_{\text{au}} = \tau_{\text{au}} \text{ 管 } \{cf_tau\} - \tau_{\text{au}} \text{ センサー } \{cf_lag\}$$

方程式 (49) は、上方方程式 (6) としてが与えられた計算した試料温度を定義する指數のテイラーリ級数展開の最初の項を表す。試料ブロックより下のフォームのパッキングの温度、仮想質量として知られている {phat}

`n_tenths`、を計算する。仮想質量の温度を使用して、仮想質量を出入りする熱の流れを説明するブロックへ供給される電力を調節する。この温度はソフトウェアにおいて実施されるローパスディジタルフィルターを使用して計算される。

$$(50) \text{phantenth} = T_{T_{n-1}} + (T_B - T_{T_{n-1}}) * T / \tau_u$$

ここで、

$T_{T_{n-1}}$ = 最後の仮想質量の温度 {phantenth}、

T_B = 現在のブロックセンサー温度 {blktenths}、

T = 試料間隔 (秒) = 200ミリ秒、

τ_{uform} = フォームブロックの τ_u = 30秒。

【0204】試料温度のエラー (試料温度と設定点温度との間の差) {abs_tubeerr} を計算する。

ランプ方向 {fast_ramp} = UP_RAMP または DN_RAMP を決定する

(試料温度が設定点 (SP) のERR内にある) 場合、PIDは速い転移モードではない。{fast_ramp} = OFF

ここでERR = 「整数バンド」、すなわち、標的または設定点温度を取り囲むエラーバンドの温度の幅。

どれだけ多くの熱がバイアス冷却チャンネルへ損失されているかを決定する現在の制御冷却電力 {cool_ctrl} を計算する。

【0205】現在のランプ冷却電力 {cool_ramp} を計算する

{cool_brkpt} を計算する。ここで、{cool_brkpt} は、冷却液を下向きランプへ制御するためにランプから転移する時を決定するために使用する冷却電力である。それはブロック温度および冷却液温度の関数である。制御冷却電力 {cool_ctrl} やランプ冷却電力 {cool_ramp} のすべては、CPUが下向きの温度のランプを制御するために、すなわち、ランプ冷却のソレノイド作動弁をどれだけ長く開いて保持するかを計算するために、知らなくてはならないファクターである。制御冷却電力は、定数 + 冷却温度 × ブロックからバイアス冷却チャンネルへの熱的コンダクタンスに等しい。同様に、ランプ冷却電力は、ブロック温度と冷却液温度 × ブロックからランプ冷却チャンネルへの熱的コンダクタンスとの間の差に等しい。冷却ブレーキポイントは、定数 × ブロックと冷却液との間の温度差に等しい。

【0206】ブロック温度をその現在の温度から所望の設定点 (SP) 温度へ動かすために必要な加熱または冷却電力 {int_pwr} を計算する。

$$(51) \text{int_pwr} = KP * CP * [(SP - TSAMP) * cf_kd + Ts - TBLK]$$

ここで、

KP = 比例ゲイン = 方程式 (46) 中の P/T = 好ましい実施態様においてほぼ 1、

CP = ブロックの熱的質量、

SP = 温度の設定点、

TSAMP = 試料温度、

TBLK = ブロック温度、

$cf_kd = \tau_u * Kd / \Delta t$ 、ここで τ_u は方程式 (49) において使用したのと同一の τ_u であり、そして Kd は定数であり、そして Δt は 200ミリ秒の試料期間である。

(試料温度が設定点の {cf_iband} 内にある)

場合、試料エラーを積分する {isum} さもなければ

(52) {isum=0} をクリアする。

整数項電力を計算する。

$$(53) \text{整数項} = \{isum\} * \text{定数} \{cf_term\}$$

整数項を電力に加える。

$$(54) \{int_pwr\} = \{int_pwr\} + \text{整数項}$$

電力を調節して、仮想質量の作用 (フォームのパッキング) により加熱負荷を、まず仮想質量の電力を見いだし、次いでそれを電力 {int_pwr} に加えることによって補償する。仮想質量の電力 {phant_pwr} を、次の式により計算する:

$$(55) \text{phant_pwr} = C * (blktenths - phantenth) / 10$$

ここで、

C = フォームのパッキングの熱的質量 (1.0W/K)。

ヒータ電力を調節する

$$\{int_pwr\} = \{int_pwr\} + \{phant_pwr\}$$

試料ブロックからそれを通して流れる冷却液を有するマニホールドのへりへの損失を補償するマニホールドのヒータ {aux1_power} において必要な電力を計算する。システムが下向きのランプである場合、{aux1_power} = 0 であることに注意する。マニホールドゾーンの要求される電力を下に記載する:

$$(57) \{aux1_power\} = K1 * (TBLK - TAMB) + K2 * (TBLK - Tcool) + K5 * (dT / dt)$$

ここで、

K1 = 係数 {cf_1coeff}

K2 = 係数 {cf_2coeff}

K5 = 係数 {cf_5coeff}

dT/dt = ランプ速度

TBLK = ブロック温度、

TAMB = 周囲温度、

Tcool = 冷却液温度。

【0207】試料ブロックのへりから周囲への損失を補償するであろう、へりヒータにおいて必要な電力 {aux2_power} を計算する。下向きランプである場合、{aux2_power} = 0 であることに注意する。へりゾーンの要求される電力を下に記載する：

$$(58) \quad \{aux2_power\} = K3 * (T_{BLK} - T_{AMB}) + K4 * (T_{BLK} - T_{COOL}) + K6 * (dT / dt)$$

ここで、

K3 = 係数 {cf_3_coeff}

K4 = 係数 {cf_4_coeff}

K6 = 係数 {cf_6_coeff}

dT/dt = ランプ速度

T_{BLK} = ブロック温度、

T_{AMB} = 周囲温度、

T_{COOL} = 冷却液温度。

【0208】マニホールド電力 {aux1_power} およびへりヒータ電力 {aux2_power} の寄与を消去して、主ヒータおよびクーラにより供給されなくてはならない合計の電力を得る。

$$(59) \quad \{int_pwr\} = \{int_power\} - \{aux1_power\} - \{aux2_power\}$$

ランプ冷却を加えるべきかどうかを決定する。{coo1_brkpt} をランプ冷却から制御冷却へのブレークポイントとして使用する。（{int_pwr} < {coo1_brkpt} および下向きランプを実施して）ならば、ブロック温度がランプ冷却で必要とされる設定点温度より非常に高いかどうかを決めるために、ランプ弁をオンにする

さもなければ

ランプ弁をオフにし、そしてバイパス冷却に依存するこの時点において、{int_pwr} は合計のヒータ電力を含有し、そして {aux1_power} および {aux2_power} はブロックからへりへの損失を含有する。補助ヒータへ供給される電力は、2つの成分から構成される：aux_power および int_power。電力は {int_pwr} を主ヒータおよび補助ヒータに面積に依存して分配する。

$$\begin{aligned} \text{【0209】} \quad total_pwr &= int_pwr \\ int_pwr &= total_pwr * 66\% \\ aux1_power &= total_pwr * 20\% + \\ aux1_power \\ aux2_power &= total_pwr * 14\% + \\ aux2_power \end{aligned}$$

各端ゾーンおよび適当な量の電力をヒータへ送るための制御ループの繰り返しのための指示を行なうトライアックのためのハーフサイクルの数を計算する。このループは 1/5 秒毎に 1 回実行し、したがって、60Hzにおいて $120/5 = 24$ ハーフサイクルまたは 50Hzにおいて

$100/5 = 20$ ハーフサイクルが存在する。ハーフサイクルの数は要求される電力 {int_pwr}、現在のライン電圧 {linevolts} およびヒータ抵抗の関数である。正確な必要な電力は各ループに供給されないので、残部を計算して {delta_pwr} 最後のループから含まれるものとのトラックを保持する。

$$(60) \quad int_pwr = int_pwr + delta_pwr$$

トライアックをオンに保持する 1/2 サイクルの数を計算する。index はトライアックをオンに保持するためのサイクル数に等しい。

(61) $index = 電力 * 主ヒータオーム * [20 \text{ または } 24] / linevolts$ の平方、ここで方程式 (61) は各ヒータゾーンについて 1 回実施し、そして主ヒータゾーンについて「電力」 = int_pwr であり、マニホールドのヒータゾーンについて aux1_pwr であり、そしてへりのヒータゾーンについて aux2_pwr である。供給された実際の電力の量を計算する。

(62) $actual_power = linevolts$ の平方 * index / 主ヒータ抵抗
次の時に添加すべき残部を計算する。

(63) $delta_pwr = int_pwr - actual_power$ {aux1_pwr} および {aux2_pwr} を方程式 (60) の中に代入することによって主ヒータについて記載したのと同一の技術を使用して、へりおよびマニホールドのヒータのための 1/2 サイクルの数を計算する。

【0210】主、マニホールドおよびへりのトライアックを制御するカウンターの中に計算したカウントを負荷する。加熱されたカバーのセンサーを見る。加熱されたカバーが 100°C より低いとき、加熱されたカバーのカウンターが 50 ワットの電力を供給するように負荷する。試料温度を見る。それが 50°C より高い場合、HOT LED をオンにしてユーザがそれに触れないよう警告する。フォエバーループの終わり。

キーボードタスク

キーボードタスクの目的は、ユーザがキーパッドのキーをプレスするのを待ち、キーを現在の状態について有効なキーストロークのリストと比較し、有効なキーに関するコマンド機能を実行し、そして新しい状態に変化することである。無効なキーストロークはビープで指示され、そして無視される。このタスクはユーザインターフェイスによって駆動される状態の心臓部である。それは「駆動される状態」である。なぜなら、取られる動作はユーザのインターフェースの現在の状態に依存するからである。

キーボードタスクの擬似コード

キーボードタスクの変数を初期化する。

【0211】カーソルをオフにする。（導入フラッグがセットされない）場合、導入プログラムを実行する。メッセージをピッド（p i d）タスクに送って加熱されたカバーをオンにする。（ユーザがプログラムを実行している間に電力が故障した）場合、電力がオフになる分數を計算しそして表示する。

【0212】電力故障状態のレコードを履歴ファイルに書き込む。あるメッセージをシケンスタスクに送って4°Cのソーキングを開始する。履歴ファイルを概観するオプションをユーザに与える。（ユーザが履歴ファイルを概観することを要求する）場合、履歴ファイルのディスプレイに行く。

【0213】トップレベルのスクリーンを表示する。

フォエバーの命令

このタスクがキーパッドからのハードウェアの割り込みを待つシステムにメッセージを送る。この割り込みがレスープされるまで、スリープ（s l e e p）に行く。起きたとき、キーパッドからのキーを読み取りそしてデコードする。現在の状態にとって有効なキーのリストを得る。キーを有効なキーと比較する。（キーがこの状態で有効である）場合、「アクション」およびこのキーのための次の状態の情報を獲得する。

【0214】この状態のための「アクション」（コマンド機能）を実行する。次の状態に行く。さもなければ無効のキーのためのビーバーをビープする。フォエバーループの終わり。

タイマタスクのオーバービュー

タイマタスクの目的は、1/2秒毎にシーケンスおよび実時間表示タスクを起動することである。クロック／カレンダー装置により発生された1/2秒のハードウェアの割り込みを受けとる毎に、タイマタスクはシステム（C R E T I N）にその起動を要求する。次いで、タイマタスクは引き続いて2ウェイクアップメッセージを、それぞれ、シケンスタスクにおよび実時間ディスプレイに送る。この中間のタスクは必要である。なぜなら、C R E T I Nは割り込み当たり1タスクのみをサービスし、こうしてより高いプライオリティタスク（シケンスタスク）のみを実行するからである。

タイマタスクの擬似コード

フォエバーの命令

クロック／カレンダー装置からハードウェアの割り込みのために待つメッセージをシステムに送る。

【0215】この割り込みをレスープするまでスリープする。起動（a w a k e）されたとき、メッセージをシーケンスおよび実時間ディスプレイタスクに送る。フォエバーループを終わる。

シケンスタスクのオーバービュー

シケンスタスクの目的は、ユーザが定めたプログラムの内容を実行することである。それはランプおよび保持セグメントから成る、サイクル中の各設定点を通して順

次にステップし、そして設定点の温度のメッセージをピッドタスクに送り、ピッドタスクは引き続いて試料プロックの温度を制御する。各セグメントの終わりにおいて、それは実時間ディスプレイタスクにディスプレイをスイッチするメッセージおよびセグメントのルーチンの情報をプリントするメッセージをプリントタスクに送る。ユーザはキーパッド上のP A U S Eキーを押して実行しているプログラムをポーズし、次いでS T A R Tキーを押してプログラムを再開する。ユーザはS T O Pキーを押してプログラムを早期にアボートすることができる。このタスクは、タイマタスクによりアウェイクされるとき、1/2秒毎に実行する。

シケンスタスクの擬似コード

フォエバーの命令

シケンスタスクの変数を初期化する。

【0216】ユーザがS T A R Tキーを押すか、あるいはメニューからS T A R Tを選択したというキーボードタスクからのメッセージ、あるいはある方法における次のプログラムが実行のために準備されたというリンクタスクからのメッセージを待つ。このメッセージがレスープされるまでスリープする。アウェイクしたとき、アナログ回路におけるドリフトの原因となるA D C較正の読みを更新する。（4°Cの電力故障のソークシケンスを開始しない）場合、P E タイトルライン、システム時間および日付、プログラム構成パラメータ、プログラムの型およびその数をプリントするメッセージをプリントタスクへ送る。（H O L Dプログラムを開始する）場合、{ h o l d _ t p } に保持する温度を得る。

【0217】{ h o l d _ t i m e } の間保持する秒数を得る。（3°Cより大きくランピングダウンしそして{ h o l d _ t p } > 45°C）である場合、中間の設定点を配置する。最後の設定点{ h o l d _ t i m e } を配置する。（保持時間{ h o l d _ t i m e } をカウントダウンする）間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。

【0218】ロックセンサーを開いていることまたはショートについてチェックする。

（キーボードタスクがP A U S Eキーを検出した）場合、現在の試料温度の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。P R I P O R E S設定点を配置する。（中間の設定点が配置された）場合、最終の設定点を配置する。（設定点温度が周囲温度より下でありそして4分より長い間存在する）場合、加熱されたカバーをオフにすることをピッドタスクに伝えるフラッグをセットする。1/2秒の保持時間のカウンター{ s t o r e _ t i m e } を増加する。

【0219】中間の設定点に到達する前に保持時間が経過した場合、最後の設定点を再び配置する—これは正しい設定点が履歴ファイルに書き込まれることを保証す

る。データレコードを履歴ファイルに書き込む。HOLD情報をプリントするメッセージをプリントタスクに送る。

HOLDプログラムの終わり

そのほかに(CYCLEプログラムを開始する)場合、計器のランプ時間およびユーザがプログラミングしたランプおよび保持時間を考慮して、サイクルにおいて合計の数{sec_in_run}を加える。サイクルにおける秒数とプログラム中のサイクル数{num_cyc}とを掛けることによって、プログラム中の合計の秒数を得る。合計の{sec_in_run} = {sec_in_run} / サイクル * {num_cyc}。

(サイクルの数{num_cyc}をカウントダウンする)間、設定点の数{num_seg}をカウントダウンする)間、ランプ時間{ramp_time}を得る。

【0220】最終の設定点温度{t_final}を得る。保持時間{local_time}を得る。ランプセグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。(ユーザがランプ時間をプログラミングした)場合、プログラミングしたランプ時間と実際のランプ時間との間のエラー{ramp_err}を次のようにして計算する。この方程式は実験データに基づく。

```
{ramp_err} = prog_ramp_rate * 15 + 0.5 (アップランプ)
{ramp_err} = prog_ramp_rate * 6 + 1.0 (ダウンランプ)
```

ここで、

```
prog_ramp_rate = (abs(Tf - Tc) - 1) / {ramp_time}
```

T_f = 設定点温度{t_final}、

T_c = 現在のブロック温度{blktemp}、

abs = 式の絶対値。

注: 「-1」は設定点の1°C以内でクロックが開始するので存在する。

新しいramp_time = 古い{ramp_time} - {ramp_err}

(新しいramp_time > 古い{ramp_time} = 古い{ramp_time}) である場合、新しいramp_time = 古い{ramp_time}

そのほかに新しいramp_time = 0。

(試料温度がユーザの構成した設定点の温度{cf_ck_dев}内ない)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップを待つ。

【0221】新しいランプ設定点を毎秒配置する。そのほかに(3°Cより大きいランピングダウンおよび{t_final} > 45°C)の場合、中間の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点の温度{cf_ck_dев}内ない)間、タイマタスクからの

1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。ブロックセンサーのオープンまたはショートをチェックする。(キーボードタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料温度の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。

【0222】ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。最終の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点の温度{cf_ck_dев}内ない)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。ブロックセンサーのオープンまたはショートをチェックする。(キーボードタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料温度の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。

【0223】ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。ランプの情報をプリントするメッセージをプリントタスクに送る。ランプセグメントの信号の終わりに対してビーパーをビープする。ランプセグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。(保持時間をカウントダウンする)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒の保持時間のカウンターを増加する。ブロックセンサーのオープンまたはショートをチェックする。(キーボードタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料温度の設定点を配置する。

【0224】ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。データのレコードを履歴ファイルに書き込む。保持の情報をプリントするメッセージをプリントタスクに送る。(最終の設定点温度がユーザの構成可能な量{cf_tem_p_dев}より大きい)場合、エラーのレコードを履歴ファイルに書き込む。プログラムされたポーズをチェックする。次のセグメントに行く。サイクルのメッセージの終わりをプリントするメッセージをプリントタスクに送る。

【0225】次のサイクルに行く。CYCLEのプログラムの終わり。そのほかに(AUTO-CYCLEプログラムを開始する)場合、計器のランプ時間とプログラム可能な量の各サイクルにより自動的に増加または減少することができるユーザがプログラミングした保持時間とを考慮して、各プログラムの中に合計の秒数{sec_s_in_run}を加える。(サイクルの数{num_cyc}をカウントダウンする)間、(設定点の数{num_seg}をカウントダウンする)間、最終の設定点温度{t_final}を得る。保持時間{time_hold}を得る。ユーザが設定点温度および/

または保持時間の自動的増加または減少をプログラミングしたかどうかをチェックし、そしてそれに応じてそれらを調節する。

【0226】温度の自動的増加または減少が設定点を0°C以下または99.9°C以上にする場合、エラーのレコードを履歴ファイルに書き込む。設定点は0°Cまたは99.9°Cでキャップ(c a p)される。ランプセグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。(3°Cより大きいランピングダウンおよび{t_final} > 45°C)の場合、中間の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点の温度{cf_ck_dev}内にない)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。

【0227】ロックセンサーのオープンまたはショートをチェックする。(キーボードタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料温度の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。最終の設定点を配置する。(試料温度がユーザが構成した設定点の温度{cf_ck_dev}内にない)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒のランプ時間のカウンターを増加する。

【0228】ロックセンサーのオープンまたはショートをチェックする。(キーボードタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料温度の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。ランプセグメント情報をプリントするメッセージをプリントタスクに送る。セグメントのランプ部分の信号の終わりに対してビーパーをビープする。保持セグメントの情報を表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。

【0229】(保持時間をカウントダウンする)間、タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒の保持時間のカウンターを増加する。ロックセンサーのオープンまたはショートをチェックする。(キーボードタスクがPAUSEキーを検出した)場合、現在の試料温度の設定点を配置する。ポーズタスクをウェイクアップするメッセージを送る。ポーズタスクによりアウェイクされるまで、スリープする。ポーズ前の設定点を配置する。データのレコードを履歴ファイルに書き込む。保持の情報をプリントするメッセージをプリントタスクに送る。

【0230】(最終の設定点温度がユーザの構成可能な量{cf_temp_dev}より大きい)場合、エラーのレコードを履歴ファイルに書き込む。次のセグメントに行く。サイクルのメッセージの終わりをプリントするメッセージをプリントタスクに送る。次のサイクルに

行く。AUTO-CYCLEのプログラムの終わり。そのほかに(POWER FAILUREシーケンスを開始する)場合、4°Cの設定点を配置する。

【0231】ピッドタスクが加熱されたカバーをシャットオフするように、フラッグ{subamb_hold}をセットする。フォエバーを命令する。タイマタスクからの1/2秒のウェイクアップメッセージを待つ。1/2秒の保持時間を増加する。フォエバーループを終わる。電力故障シーケンスの終わり。履歴ファイルに実行終わりの状態のレコードを書き込む。

【0232】(方法を実行している)場合、リンクタスクが次のプログラムの実行を開始するメッセージをシーケンスタスクを送ることを知るよう、フラッグ{wid_flag}をセットするそのほかにユーザのインターフェースをアイドル状態の表示に戻す。フォエバーループの終わり。

ポーズタスクのオーバービュー

ポーズタスクの目的は、ユーザがCYCLEプログラムの中にプログラミングするポーズあるいはユーザがキーパッド上のPAUSEキーを押すときのポーズを取り扱うことである。

【0233】CYCLEプログラムを実行する間シーケンスタスクがプログラミングしたタスクに直面するとき、シーケンスタスクはスリープに行きまたポーズタスクをアウェイクする。ポーズタスクは、引き続いて、ユーザがポーズするように要求した時間を連続的に表示しディクリメントするメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。ポーズタイムがタイムアウトするとき、ポーズタスクはシーケンスタスクをアウェイクするメッセージを送り、次いでスリープへ行く。ユーザはキッパッド上のSTARTキーを押すことによってプログラムを早期に再開することができるが、あるいはSTOPキーを押すことによってプログラムを早期にアボートすることができる。

【0234】プログラムが実行されている間キーボードタスクがPAUSEキーを検出したとき、それはフラッグ{pause_flag}をセットし、次いでシーケンスタスクがそれを肯定するのを待つ。シーケンスタスクはこのフラッグのセットを見るとき、それは肯定応答メッセージをキーボードタスクに送り戻し、次いでそれ自体スリープする。キーボードタスクがこのメッセージを受けとると、それはポーズタスクをアウェイク(起動)する。ポーズタスクはプログラムがポーズする時間の量を連続的にディスプレイしつつ増加するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。タイマは、構成のセクションにおいてユーザがセットしたポーズ時間の限界に到達するときにタイムアウトする。ユーザは、キーパッド上のSTARTキーを押すことによってプログラムを再開するか、あるいはSTOPを押すことによってプログラムをアボートすることができる。

ポーズタスクの擬似コード

フォエバーを命令する

キーパッドのポーズを示すキーボードタスクからのメッセージ、あるいはユーザのプログラミングしたポーズを示すシーケンスタスクからのメッセージを待つ。

【0235】メッセージが受けとられるまでスリープする。アウェイクしたとき、示したポーズの型についてのフラグをチェックする。（それがプログラミングしたポーズである）場合、ポーズタイマがカウントアップするのを表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。そのほかにポーズタイマがカウントダウンするのを表示するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。（タイムアウトカウンターをカウントダウンする）間、このタスクを $1/2$ 秒間持続するメッセージをシステムに送る。ポーズの情報をプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。（それはプログラミングしたポーズである）場合、ポーズはタイムアウトされてないので、シーケンスタスクをウェイクアップするメッセージを送る。

【0236】ポーズの表示を中止するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。実行するプログラムの表示を再開するメッセージを実時間ディスプレイタスクに送る。そのほかに（それがキーパッドのポーズである）場合、ポーズはタイムアウトされており、そしてプログラムはアボートされなくてはならないので、シーケンスタスクを中止するメッセージをシステムに送りそしてそれをそのFOEVERループのトップに送り戻す。

【0237】（プログラムの実行がHOLDプログラムであった）場合、保持情報をプリントするメッセージをプリンタタスクに送る。状態のレコードを履歴ファイルに書き込む。ユーザのインターフェースをそのアイドル状態に戻す。アボートのメッセージを表示する。フォエバーのループの終わり。

ディスプレイタスクのオーバービュー

実時間ディスプレイタスクの目的は、温度、タイマ、センサーの読み、ADCチャンネルの読み、および $1/2$ 秒毎に規則的に更新することが必要である他のパラメーターを表示することである。

ディスプレイタスクの擬似コード：ディスプレイタスクの変数を初期化する。フォエバーを命令する $1/2$ 秒毎にタイマタスクからのメッセージを待つ。

【0238】メッセージが受けとられるまでスリープする。アウェイクしたとき、他のタスクがディスプレイのパラメーターのリストまたは現在の更新を中止するフラグを送ったかどうかをチェックする。 $1/2$ 秒のフラグ{half_sec}をトグルする。（ディスプレイのパラメーターのリストが存在する）場合、誰もがディスプレイを更新しないように信号をセットする。カーソルをオフにする。（パラメーターのリストを通してステップする）間、（それが時間のパラメーターである）

場合、時間をディスプレイする。（ $1/2$ 秒のフラグ{half_sec}がセットされる）場合、時間変数を増加または減少する。

【0239】そのほかに（それが小数である）場合、小数を表示する。そのほかに（それが整数である）場合、整数を表示する。そのほかに（それがADCチャンネルのリードアウトである）場合、ADCチャンネルからのカウントを読む。（それをmVと表示することが必要である）場合、カウントをmVに変換する。その値を表示する。そのほかに（それが電力のディスプレイである）場合、電力をワットで表示する。

【0240】そのほかに（それが残った時間のパラメーターである）場合、秒を時間の $1/10$ に変換する。残った時間を $1/10$ 時間で表示する。（ $1/2$ 秒のフラグ{half_sec}をセットする）場合、秒の変数を減少する。

【0241】（カーソルがオンであった）場合、それをオンにし戻す。現在のシステム時間をバッテリーRAMに記憶する。信号をクリアしてディスプレイを解放する。フォエバーのループの終わり。

プリンタタスクのオーバービュー

プリンタタスクの目的は、実行時間のプリントを取り扱うことである。それは低いプライオリティのタスクであり、そして他の時間的にクリティカルであるタスクを干渉してはならない。

プリンタタスクの擬似コード

フォエバーの命令

プリントを望むメッセージを他のタスクから待つ。

【0242】メッセージを受けとるまでスリープする。アウェイク（起動）したとき、広域変数の局所的なコピーネットをプリントする。プリンタの肯定メッセージを配置する。（状態またはエラーのメッセージをプリントすることが必要である）場合、現在の履歴レコードの中に含まれている情報をプリントする。そのほかに（ページヘッダをプリントすることが必要である）場合、プログラムの型およびその数をプリントする。そのほかに（プログラムの構成パラメーターをプリントすることが必要である）場合、クロックを開始する設定点からの管の型、反応体積および試料温度の誘導をプリントする。

【0243】そのほかに（サイクルの情報の終わりをプリントすることが必要である）場合、終わりの時間および温度をプリントする。そのほかに（セグメントの情報をプリントすることが必要である）場合、ランプまたは保持セグメントの情報をプリントする。

【0244】そのほかに（ポーズの状態のメッセージをプリントすることが必要である）場合、ポーズした時間および温度をプリントする。フォエバーのループの終わり。

LEDタスクのオーバービュー

LEDタスクの目的は、「加熱」LEDの照明が主ヒー

タに加えた電力を反映するようにさせることである。これは毎秒1回走行する低いプライオリティのタスクである。

LEDタスクの擬似コード: LEDタスクの変数を初期化する。

フォエバーの命令

このタスクを毎秒ウェイクするメッセージをシステムに送る。

【0245】スリープする。アウェイクしたとき、次のようにして主ヒータに加えた電力を反映する値をP I C タイマAのカウンター2に負荷する：

カウンターに値= {K_ht1ed} * {ht1ed} を負荷する

ここで、{K_ht1ed} は加熱LEDをパルスする時間を計算するための定数であり、そして 15200 / 500 に等しい。15200 は 14.4 KHz の P I C のクロックよりわずかに大きく、そしてこれは LED を絶えずオンに保持するためにタイマに負荷する値である。500 は主ヒータの電力である。

【0246】 {ht1ed} は 0 ~ 500 の値であり、そして主ヒータに加えたワットに等しくなる。

フォエバーのループの終わり

リンクタスクのオーバービュー

リンクタスクの目的は、キーパッド上の S T A R T キーを押すユーザをシミュレーションすることである。ユーザの介在なしに 1 つずつ（方法におけるように）プログラムを実行できるように、このタスクは必要である。リンクタスクはシーケンスタスクをウェイクアップし、そして S T A R T キーが押されたように、それは次のプログラムを実行を開始する。

リンクタスクの擬似コード: リンクトスクの変数を初期化する。

フォエバーの命令

（フラグ {weird_flag} がセットされ、そしてそれがその方法における初めての報告ではない）場合、ウェイクアップのメッセージをシーケンスタスクに送る。フォエバーのループの終わり。

スタートアップシーケンス

パワーアップシーケンス

計器への電力がオンにされるか、あるいはソフトウェアが R E S E T を命令するとき、次のシーケンスが起こる。注：以下の数はフローチャート上の数である（図 5-4 ~ 図 5-7 参照）。

【0247】 1. R S - 2 3 2 プリンタポートの中から外に C t r l - G (10進法の 7) の文字を転送する。R S - 2 3 2 ポートを少なくとも 1 秒間ポーリングそして C t r l - G がレシーブされる場合、外部のコンピュータをポートに取り付け、そしてパワーアップシーケンスの間のすべてのコミュニケーションをキーパッドから R S - 2 3 2 ポートに再び向けると仮定する。C t r

l - G がレシーブされない場合、パワーアップシーケンスは正常として継続する。

2. M O R E キーが押されたかどうかをチェックする。押された場合、サービスオンリーのハードウェアの診断に直行する。

3. 次の 3 テストはオーディオ / ビジュアルチェックであり、そしてエラーをレポートすることができない：

1) ピーパーはビープする、2) キーボード上の熱い、冷却、および加熱 LED はフラッシュする、3) ディスプレイの各絵素は輝く。著者権および計器の I D スクリーンは、パワーアップ診断が実行されたとき表示される。

【0248】 4. パワーアップ診断の 1 つにおいてエラーが起ると、破壊した成分の名前は表示され、そしてサービスオンリーのハードウェアの診断へのアクセスを獲得するコード「M O R E 9 9 9」を除外して、キーパッドはロックされる。

5. P P I - B 装置のチャンネル 0 をチェックして、自動化テストビットがローであるかどうかを見る。そうである場合、U A R T テストを実行する。テストがパスする場合、ビーパーを連続的にビープする。

6. C R E T I N オペレーティングシステムをスタートし、このシステムは引き続いてプライオリティレベルにより各タスクをスタートする。

7. バッテリー R A M 中のフラッグをチェックして、計器が較正されたかどうかを見る。そうでない場合、エラーメッセージを表示し、そしてサービスオンリーの較正テストへのアクセスを獲得するコード「M O R E 9 9 9」を除外して、キーパッドをロックする。

【0249】 8. 電圧およびラインの周波数を測定するテストを実行し、そして計器を較正している間選択した構成プラグと両者のこれらの値が合致するかどうかを見る。合致しない場合、エラーメッセージを表示し、そしてサービスオンリーの較正テストへのアクセスを獲得するコード「M O R E 9 9 9」を除外して、キーパッドをロックする。

9. 導入セクションにおいて記載したようにヒータピングテストを実施する。ヒータが誤って配線されている場合、エラーメッセージを表示し、そしてサービスオンリーの較正テストへのアクセスを獲得するコード「M O R E 9 9 9」を除外して、キーパッドをロックする。

10. バッテリー R A M 中のフラッグをチェックして、計器が導入されたかどうかを見る。そうでない場合、エラーメッセージを表示し、そして導入ルーチンへのアクセスを獲得するコード「M O R E 9 9 9」を除外して、キーパッドをロックする。

【0250】 11. 遠隔モードでない場合、バッテリー R A M 中のフラッグをチェックして、計器が実行されている間に電力の故障が存在したかどうかを見る。そうである場合、4°C のソーグを開始そして電力がオフにな

っていた時間の量を表示する。電力が消耗したとき、どれだけ長く実行されたかを正確に告げる履歴ファイルを見たいかどうかをユーザに質問する。ユーザが yes を選択する場合、ユーザの診断に直接行く。

12. ピーパーをビープし、そして遠隔モードフラッグをクリアし、こうしてすべてのコミュニケーションはここでキーパッドを通して戻される。

13. バッテリーRAMをチェックして、自動的に開始されたテストプログラムを作成が欲するかどうかを見る。そうである場合、プログラムの実行を開始し、そしてそれが実施されたのち計器をリセットする。

【0251】14. トップレベルのユーザのインターフェースのスクリーンをディスプレイする。

図51を参照すると、商標MAX I AMPで市販されている大きい体積の薄い壁の反応管の断面図である。この管は、PCR反応に有用であり、ここで合計の体積を $200\mu l$ より大きくする反応混合物に、試薬または他の物質を添加することが必要である。図51に示されているより大きい管は、Himont PD701ポリプロピレンまたはValtec HH-444ポリプロピレンから作られており、そして試料ブロックと接触する薄い壁を有する。選択した材料は何であっても、DNAおよびPCR反応混合物の他の成分と適合性がなければならず、例えば、標的DNAを壁に粘着させることによって処理するPCR反応を障害せずそして複製しないようとする。ガラスは一般にすぐれた選択物ではない。なぜなら、DNAはガラス管の壁に粘着することが知られているからである。図51中の寸法Aは典型的には 0.012 ± 0.001 インチ(0.30 ± 0.03 mm)であり、そして管の縦軸に関する壁の角度は典型的には 17° である。 17° の壁の角度の利点は、下向きの力が試料ブロックとすぐれた熱的接触を誘発する間、管は試料ウェル中で閉塞しないということである。薄い壁の利点は、それが試料ブロックの温度変化と反応混合物の温度の対応する変化との間の遅延を最小にすることである。これが意味するように、ユーザが変性セグメントにおいて反応混合物を $94^\circ C$ の $1^\circ C$ 内に5秒間止まらせ、そしてこれらのパラメーターでプログラミングしようとする場合ユーザは5秒の変性間隔を獲得し、ここで時間遅れはより厚い壁をもつ普通の管を使用する場合より少ない。短いソーグ間隔、例えば、5秒のソーグ間隔をプログラミングし、そして正確にプログラミングした時間の間プログラミングした温度におけるソーグを獲得することができるという、この性能特性は、計算した試料温度を使用してタイマを制御することによって可能である。ここに記載するシステムにおいて、計算した試料温度がプログラミングしたソーグ温度に到達するまで、インキュベーションまたはソーグの間隔を計時するタイマはスタートしない。

【0252】さらに、薄い壁の試料壁を使用するとき、

試料混合物が標的温度の $1^\circ C$ 内にするのに、この試料管は先行技術の厚い壁のマイクロ遠心器と比較して、約 $1/2 \sim 2/3$ の時間を要するのみであり、そしてこれは図51に示す背の高いMAX I AMP(登録商標)管および図15に示すそれより小さい薄い壁のMICROAMP(登録商標)管の両者について言える。

【0253】MAX I AMP管およびMICROAMPの壁厚さは、適切な構造の強さと一致するだけ薄いものとなるように製作プロセスにおいて緊密に制御される。典型的には、ポリプロピレンについて、これはどこでも $0.009 \sim 0.012$ インチ($0.23 \sim 0.30$ mm)である。新しくてポリプロピレンより強いより特殊な材料を使用してPCR反応速度を大きくするという利点を達成すれば、適切な強さが維持されてすぐれた熱的接続を保証する下向きの力および通常の使用の他のストレスに耐える限り、壁厚さはなお薄くすることができる。 1.12 インチ(28.4 mm)の高さ(図51において寸法B)および 0.780 インチ(19.8 mm)の寸法Cおよび 0.395 インチ(10.0 mm)の上部断面の壁厚さ(Dの寸法)では、MAX I AMP管の時定数はほぼ14秒であるが、これは充填時間のように正確に測定されなかった。図15に示すより短い管のためのMICROAMP管の時定数は、典型的には、 0.009 インチ ± 0.001 インチ(0.23 ± 0.03 mm)の円錐形断面における管壁厚さで、ほぼ9.5秒である。

【0254】図52はより薄い壁のMICROAMP管の使用の結果を示す。標的温度の同様な速度増加の達成は薄い壁のMAX I AMP管の使用から生ずるであろう。図52を参照すると、MICROAMP管中の計算した試料温度についての相対的インキュベーション温度付 $72^\circ C$ の出発温度から $94^\circ C$ の標的変性温度の $1^\circ C$ 内の温度に到達するための先行技術管についての時間のグラフが示されている。図52において、 $100\mu l$ の試料が各管の中に存在した。開いた箱によりマークされたデータ点をもつ曲線は、9.5秒の応答時間および 0.009 インチ(0.23 mm)の壁厚さをもつMICROAMP管についての計算した試料温度応答である。Xによりマークされたデータ点をもつ曲線は、先行技術の 0.030 インチ(0.76 mm)の壁厚さをもつ厚い壁のマイクロ遠心器管中の $100\mu l$ の試料について計算した試料温度を表す。このグラフが示すように、薄い壁のMICROAMP管はほぼ36秒以内で $94^\circ C$ の標的ソーグ温度の $1^\circ C$ 内の計算した温度に到達するが、先行技術の管は約73秒を要する。これは重要である。なぜなら、ソーグ温度に実質的に到達するまで、タイマをスタートさせない計器において、先行技術の管は、ことに各PCRサイクルが少なくとも2つのランプおよびソーグを有し、そして一般に実施する非常に多数のサイクルが存在するという事実に照らして考慮したとき、全体の

処理時間を実質的に増加することがあるからである。実際の試料温度に無関係にブロック／浴／炉温度に基づいてそれらの時間をスタートするシステムにおいて、ブロック／浴／炉温度の変化と試料混合物の温度変化との間のこれらの長い遅延は重大なマイナスの結果を有することがある。問題は、反応混合物がソーカるためにプログラミングした温度に実際にある時間に長い遅延が干渉できることである。最近のPCRプロセスにおいて普通でるように非常に短いソーカについて、加熱／冷却システムをスタートして反応混合物の温度を変化させようとする前に、反応混合物はプログラミングしたソーカ温度に決して到達することができない。

【0255】図51は、プラスチックウェブ652によりMAX I AMP試料管に接続されたポリプロピレンのキャップ650を示す。キャップの外径Eおよび管の上部断面の内径Fは0.002インチ(0.05mm)および0.005インチ(0.13mm)の間の締め嵌めのための大きさである。管の内側表面654は、ぱり、切り目および引っ掻き傷が存在せず、こうしてキャップとの緊密なシールを形成できるようにすべきである。図53は、管651、キャップ650およびウェブ652の平面図を示す。肩656はキャップが管の中に深く押し込まれるのを防止し、そして加熱された定盤と接触するために試料管の上部へりより上へキャップが十分に突き出るのを可能とする。これは、また、十分な管の変形を可能とし、こうして図15における最小の許容されうる力Fはキャップの変形により加えることができる。

【0256】好ましい実施態様において、管およびキャップは、15分までの間126°Cまでの温度でオートクレーブ処理可能であるHimont PD701ポリプロピレンから作られる。これにより、この使い捨て管を使用前に滅菌することができる。キャップは加熱された定盤をもつ機械の中で使用するとき永久的に変形するので、管はただ1回の使用のために設計される。MICROAMP管のためのキャップは8または12キャップの接続へリstrippで入手可能であり、各キャップは番号を付されているか、あるいは個々のキャップに分割されている。キャップの単一の列を使用することができそして列は必要に応じた小さい数に容易に短くすることができますか、あるいは個々のキャップをストリップから切

り取ることができます。MAX I AMP管のためのキャップは図51に示されているように取り付けられるか、あるいは分離された個々のキャップである。

【0257】MICROAMP管上の混合を可能とするポスト-PCR試薬の添加のための最大体積は、200μlでありMAX I AMP管について500μlまでである。温度の限界は-70°C～126°Cである。応答時間は試料の体積に依存する。ブロックが急激に温度を変化させたとき、応答は新しい温度の37%以内に試料がなる時間として測定される。典型的な応答時間は、50μlの充填について7.0秒であり、そして20μlの充填について5.0秒である。

付録A

ユーザのインターフェース

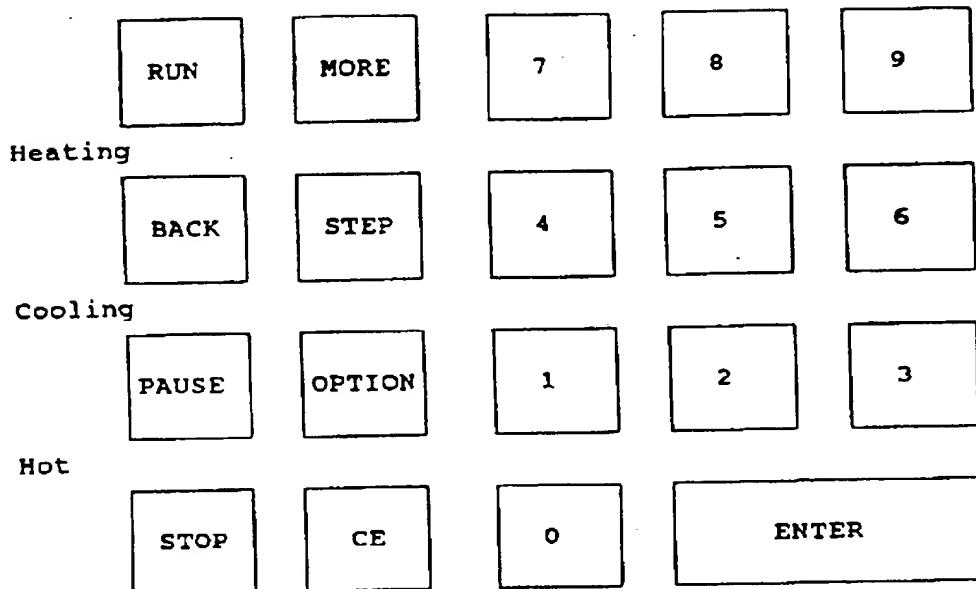
ユーザのインターフェースのGeneAmpのPCRシステム9600の目的は、PCRを実施するプログラムを開発しそして実行することである。

【0258】入手可能な下記の3つの型のプログラムが存在する。1つ目のホールド(HOLD)プログラムは、セットした量の時間に対して保持されるか、あるいは無限量の時間に対して保持されそしてSTOPキーにより停止される単一の設定点から成る。2つ目のサイクル(CYCLE)プログラムは、時間設定がなされたランプ応答およびプログラム可能なポーズ(休止)の特徴を付加する。このプログラムは9までの設定点および99までのサイクルを可能とする。3つ目のオート(AUTO)プログラムにより、ユーザは設定点の時間および/または温度をサイクル毎に固定した量で増加または減少させることができる。このプログラムは、また、9までの設定点および99までのサイクルを可能とする。方法(METHOD)プログラムは、上記のホールド、サイクルまたはオートプログラム17まで一緒にリンクする方法を提供する。合計150のプログラムを1～150の範囲の数で記憶することができる。プログラムをつくり、記憶し、保護し、プリントし、または消去することができる。記憶されたプログラムのディレクトリを見るか、あるいはプリントすることができる。

【0259】

【表1】

システム9600のキーボード



【0260】RUN：プログラムのディスプレイからプログラムの実行を開始するか、あるいはプログラミングによる休止またはキーパッド操作による休止を再スタートする。

MORE：ランタイムのディスプレイをトグルしそして、また、サービスオンリーファンクションをアクセスする（コード999が後に続く場合）。

BACK：同一のスクリーン内の前のフィールドに動かす。現在のフィールドが第1フィールドに位置している場合、そのフィールドは前のスクリーンに移動する。

【0261】STEP：次のスクリーン中の第1フィールドに向かって下方に移動する。

PAUSE：マニュアル割り込みのためにポーズ（休止）したタイムアウトをスタートする。

OPTION：メニューの項目を捜しながらカーソルを*

PROGRAM display
Prog # # Msg Temp
Menu

*左から右に動かす（一番左のオプションに戻る）か、あるいはYES/NOの応答をトグルする。

【0262】STOP：実行しているプログラムを打ち切るか、あるいはユーザのインターフェースにおいて1レベル上に動かす。

CE：無効の数値入力をクリアする。

ENTER：現在の数値入力を受け取り、メニューの項目を受け取り、YES/NOの応答を受け取るか、あるいはディスプレイの次のフィールドにスキップする。数値入力がディスプレイの最後である場合、ENTERにより次のディスプレイにステップする。

一般のシステム9600のディスプレイ

【0263】

【表2】

Example:

CYCL #17 Done 74.0C
RUN-STORE-PRINT-HOME

【0264】

Prog HOLD, CYCL (CYCLEの略), AUTOまたはNETH (METHODの略)

プログラム# (1~150)、またはそれがまだ記憶されていない場合は???

Msg Done, Error, Abortまたはブランク

Temp 現在の試料温度

Menu 入手可能なオプション

【0265】

【表3】

RUNTIME display

Action Timer	Temp Prog/Cyc
-----------------	------------------

Example:

Ramp to 94.0C	29.6C
10:00	Cycle 14

【0266】

Action 「x x. x°Cにおいて保持」または「x x. x°Cにランプ応答」
 Temp 現在の試料温度
 Timer 保持またはランプ応答時間をカウントダウンするか、あるいはFOREVERの保持時間までカウントアップする
 Prog/Cyc HOLDファイルに対して「Prog xxx」CYCLまたはAUTOファイルに対して「Cycle xx」—カウントアップ

【0267】

【表4】

MORE display

Setpt Timer	Tot Cyc Prog
----------------	-----------------

Setpt #3	Tot Cyc 25
Hrs left 2.5	Prog 17

Example:

【0268】

Setpt 現在の設定点# (1~9) —カウントアップ
 Tot Cyc 現在のプログラムにおけるサイクルの合計# (1~99)
 Timer プログラムにおける残りの時間 (hrsで表示) —カウントダウン
 Prog 現在のプログラム# (1~150)

【0269】

【表5】

KEYPAD PAUSE display

Prog ## PAUSE Timer	Temp
------------------------	------

Example:

AUTO #18	55.0C
PAUSE 9:45	

【0270】

Prog HOLD, CYCL, AUTOまたはMETH
 ### プログラム# (1~150)、またはそれがまだ記憶されていない場合は???
 Msg Done, Error, Abortまたはブランク
 Temp 現在の試料温度
 Timer 構成可能なポーズ時間—カウントダウン

トップレベルのユーザのインターフェース

【表6】

【0271】

Select Option 9600
RUN-CREATE-EDIT-UTIL
 TOP LEVEL display

Run
Enter program #xxx
 RUN display

Edit
Enter program #xxx
 EDIT display

Create program
HOLD-CYCL-AUTO-METH
 CREATE display

Select function
DIR-CONFIG-DIAG-DEL
 UTIL display

Select print mode
OFF-CYCLE-SETPOINT

【0272】 プログラムはCREATEのディスプレイ中のプログラムの型を選択することによってつくる。ユーザは編集すべきプログラムの最初のディスプレイに直接行く。記憶されたプログラムを、RUN, EDITまたはプログラムのディスプレイから番号1～150のいずれかを入力することによって検索する。RUNディスプレイの状態で有効なプログラムの番号を入力すると、プログラムの実行が自動的に開始する。EDITまたはプログラムのディスプレイの状態で有効な番号を入力すると、編集すべきプログラムの最初の部分のディスプレイが現れる。

【0273】 STEP (スクリーンを下方に動かす) またはBACK (前のフィールドに動く) またはENTER (次のフィールドに動く) を押すことによって、プログラムを編集する。RUN-STORE-PRINT-HOMEメニューのRUNを選択するか、あるいはキーパッド上のRUNキーを押すことによって、プログラムを実行する。ユーザは、上記各プログラム実行に要求される2つのパラメータを最初に入力する。

【0274】

【表7】

Tube type: MICRO
 React vol: 100uL

【0275】 OPTIONキーはMICRO (Micro Amp管) からTHIN (薄い壁のGeneAmp管) に管の型をトグルする。ユーザが特別の管を構成した場合、OTHERのオプションが追加される。異なる反応体積を入力することができる。これらのパラメータはこのプログラムとともに記憶される。ENTERはこれららの値を受け取る。

【0276】

【表8】

【0277】 ユーザがランタイムのプリンタをオンの状態にし、そしてサイクル、オートまたは方法のプログラムを実行している場合、次のプリンタの選択が提示される。CYCLEは、サイクルが完結したときのみメッセージをプリントする。SETPOINTは、すべての設定点 (ランプ応答/保持時間および温度) についてのランタイムのデータをプリントする。

【0278】

【表9】

Select print mode
OFF-ON

【0279】 ユーザがランタイムのプリンタをオンの状態にし、そして保持のプログラムを実行している場合、次のプリンタの選択が提示される。

【0280】

【表10】

Cover temp is xx°C
 Run starts at 100°C

【0281】 加熱されたカバーが100°C以下である場合、次のスクリーンが表示される。ユーザがこの表示されたディスプレイを監視していれば、加熱されたカバーが100°Cに到達したときにプログラム実行は自動的に開始する。ユーザがプログラムのディスプレイに戻るためにSTOPを打った場合、プログラム実行はマニュアルで再スタートしなくてはならない。プログラムをセー

ブ(Save)しない状態でRUN-STORE-PRINT-HOMEメニューにおけるMOREを受け取ると、次のスクリーンが表示される。

【0282】

【表11】

**Prog #xxxx not stored
Continue? YES**

ホールドプログラム

【0283】

【表12】

**HOLD #xxxx xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME
PROGRAM display**

**Hold at xx.xC
Hold FOREVER-xxxx:xx**

**Hold at xx.xC xx.xC
xxx:xx Prog xx
RUNTIME display**

**HOLD #xx xx.xC
PAUSE xx:xx
KEYPAD PAUSE display**

Beep while Hold? NO

【0286】ビーパーは1秒毎に1回音を出す。

ホールドプログラム-ランタイムの表示

【0287】

【表14】

None

MORE display

None

PROGRAMMED PAUSE

【0288】

ホールドプログラム-ランタイムのプリントアウト

PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

x 1990年11月14日 xx:xx AM

管の型: MICRO 反応体積: 100 μl 開始クロック 設定点の x. x°C
以内

HOLDプログラム#xxx

HOLDプログラム: xx. x°C xxx:xx 実際: xx. x°C xxx
: xx または

HOLDプログラム: xx. x°C FOREVER 実際: xx. x°C xx
x : xx

HOLDプログラム#xxx-プログラム実行の完結 1990年11月14日
xx:xx AM

サイクルプログラム

【0289】

【表15】

CYCL #xxx xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME
PROGRAM display

x Temperature PCR

【0290】デフォルト(不履行)は3である。これはこのプログラムにおける設定点の数を決定する。1~9の設定点が許される。

【0291】

【表16】

Setpt #1 Ramp xx:xx
xx.xC Hold xx:xx

【0292】上で入力した設定点の数により、どれだけ多くの設定点の編集の表示がなされるかが決定される。ユーザーは各設定点についてのランプ応答時間および保持時間を入力することができる。ユーザーが設定点を構成することが可能な温度範囲内に試料温度が到達したときに、保持タイマがスタートするであろう。

【0293】

【表17】

Total cycles = xx
Pause during run? NO

【0294】ユーザーがポーズを必要としない場合、次の3つのディスプレイがスキップされる。1~99サイク

Ramp to xx.xC xx.xC
xxx:xx Cycle xx
RUNTIME display (ramp)

Hold at xx.xC xx.xC
xxx:xx Cycle xx
RUNTIME display (hold)

CYCL #xxx xx.xC
PAUSE xx:xx
KEYPAD PAUSE display

【0302】

サイクルプログラム-ランタイムのプリントアウト
PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

ルが可能である。

【0295】

【表18】

Pause after setpt #x
Beep while pause? YES

【0296】設定点の数について0を入力することは、ユーザーがポーズを必要としないことを意味し、したがって次の2つのディスプレイがスキップされる。

【0297】

【表19】

1st pause at cycl xx
Pause every xx cycles

【0298】サイクルの数は上で入力した合計の数に限定される。

【0299】

【表20】

Pause time xx:xx

【0300】デフォルトのポーズ時間はユーザーの構成の中にセットされる。

サイクルプログラム-ランタイムのディスプレイ

【0301】

【表21】

Setpt #x Tot Cyc xx
Hrs left X.X Progxxx
MORE display

Setpt #x xx.xC
PAUSE xx:xx Cycle xx
PROGRAMMED PAUSE

x 1990年11月14日 xx:xx AM
 管の型: MICRO 反応体積: 100 μl 開始クロック 設定点のx. x°C
 以内

CYCLプログラム#xxx

CYCL#xx

Setpt #x RAMPプログラム: xx. x°C xx:xx 実際: xx
 . x°C xx:xx

HOLDプログラム: xx. x°C xx:xx 実際: xx. x°C xx:xx
 x

• (9までの設定点)

• (99までのサイクル)

CYCLプログラム#xxx—プログラム実行の完結 1990年11月14日
 xx:xx AM

CYCLプログラム#xxx—ユーザのアボート(打ち切り) 1990年11月
 14日 xx:xx AM(打ち切りの場合のみ)

オートプログラム

【0303】

【表22】

AUTO fxxx xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME

PROGRAM display

x Temperature PCR

【0304】ディフォルトは3である。このディフォルトはこのプログラムにおける設定点の数を決定する。1～9の設定点が許される。

【0305】

【表23】

Setpt #1 xx.xC
 Hold for xx:xx

【0306】上で入力した設定点の数により、どれだけ多くの設定点の編集の表示がなされるかが決定される。ランプ応答時間が与えられないと、計器は出来る限り速くランプ応答する。ユーザが設定点を構成することが可能な温度範囲内に試料温度が到達したときに、保持タイマーがスタートする。

【0307】

【表24】

Setpt #1 xx.xC
Change time/temp? YES

【0308】ユーザがサイクル毎に時間および/または温度を増加または減少させようとする場合、次の表示が与えられる。

【0309】

【表25】

xx.xC delta - x.xC
 delta xx:xx

【0310】OPTIONキーは矢印を上方に(サイクル毎に増加)または下方に(サイクル毎に減少)トグルする。減少を可能とする最大時間は設定点の保持時間に限定される。

【0311】

【表26】

Total cycles = xx

【0312】99までのサイクルが許される。
オートプログラム—ランタイムのディスプレイ

【0313】

【表27】

Hold at xx.xC xx.xC
xxx:xx Cycle xx

RUNTIME display

AUTO #xxx xx.xC
PAUSE xx:xx

KEYPAD PAUSE display

Setpt #x Tot Cyc xx
Hrs left X.X Progxxx

MORE display

None

PROGRAMMED PAUSE

【0314】

オートプログラム—ランタイムのプリントアウト

PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

x 1990年11月14日 xx:xx AM

管の型: MICRO 反応体積: 100 μl 開始クロック 設定点の x. x°C
以内

AUTOプログラム# xxx

CYCL# xx

Setpt# x RAMPプログラム: xx. x°C xx:xx 実際: xx
. x°C xx:xx

HOLDプログラム: xx. x°C xx:xx 実際: xx. x°C xx:xx

x

• (9までの設定点)

• (99までの設定点)

CYCLプログラム# xxx—プログラム実行の完結 1990年11月12日
xx:xx AM

CYCLプログラム# xxx—ユーザの打ち切り 1990年11月12日 x
x:xx AM (打ち切りの場合のみ)

方法プログラム

【0315】

【表28】

METH #xxx xx.xC
RUN-STORE-PRINT-HOME

PROGRAM display

Link progs: - -
- - - - -

【0316】17までのプログラムがある方法において
リンクすることができる。ユーザが、存在しないプログラ
ム#を入力しようとする場合、メッセージ「プログラ
ムは存在しない」が表示される。ユーザが他の方法でリ
ンクしようとする場合、メッセージ「この方法でリンク
することができない」が表示される。

【0317】

【表29】

【0318】方法プログラム—ランタイムの表示
RUNTIME, MOREおよびPAUSEの表示は、
現在実行されているプログラムのものであろう。実行さ
れているプログラムがある方法においてリンクされると
き、2つの付加的なMOREのディスプレイが与えられ
る。

【0319】

【表30】

METH #xxx aaa-bbb-
ccc-ddd-eee-fff-qqq-

ADDITIONAL MORE display

【0320】現在実行されているプログラムの数が一時

的に表示されるであろう。

【0321】

【表31】

hh-h-iii-jjj-kkk-111-
mmm-nnn-ooo-ppp-qqq

*

方法プログラム一ランタイムのプリントアウト

PE Cetus GeneAmp PCRシステム9600 Ver xx.

x 1990年11月14日 xx:xx AM

管の型: MICRO 反応体積: 100 μl 開始クロック 設定点のx. x°C
以内

METHODプログラム#xxx

データに先行する

METHODプログラム#xxx

ログラムデータに従う

—すべてのリンクされたプログラムの

—方法の完結—すべてのリンクしたブ

ログラムデータに従う

方法プログラム一プリント

【0323】

【表32】

Select option
METHOD-PROGRAM DATA

【0324】METHOD この方法においてリンクした各プログラムのヘッダをプリントする。

PROGRAM DATA この方法においてリンクした各プログラムのヘッダおよびその内容をプリントする。

プログラムの記憶

STOREがRUN-STORE-PRINT-HOMEメニューから選択されるとき、プログラムを記憶するルーチンはファイルならびに方法について同一である。プログラムを保護することによって、このプログラムがユーザの番号を認識しないために勝手に重ね書きされたり消去されたりすることができないようにユーザが保証されるであろう。他のユーザは彼らの方法において上記の保護されたファイルを見、編集、実行し、そしてリンクすることができるが、記憶されたバージョンを変更することはできないであろう。

【0325】

【表33】

Store
Enter program #xxx

【0326】xxxは1~150の最初の利用可能なプログラムである。

* 【0322】

【0327】

【表34】

Progxxx is protected
Enter user #xxxx

【0328】ユーザは保護されたプログラムの#を入力した。正しいユーザの#はこのプログラムを重ね書きするために入力されなくてはならない。

【0329】

【表35】

Progxxx is protected
Wrong user number!

【0330】誤ったユーザの#が入力された。このディスプレイは5秒間止まった後、前のものに戻る。ユーザは正しい#を入力するために3回のチャンスが与えられる。

【0331】

【表36】

Progxxx is linked in
Methxxx Continue? YES

【0332】ユーザがある方法においてリンクされたプログラムを重ね書きしようとする場合、ユーザは警告され、そして、上記動作を続けた行うか否かの選択が提示される。

【0333】

【表37】

Can't overwrite prog
Linked in method xxx

【0334】ユーザが他の方法においてリンクされたプログラムを重ね書きしようとする場合、エラーメッセージが与えられる。

【0335】

【表38】

Store
Protect program? NO

【0336】ユーザは、プログラムを保護しながらびに前*

Prog #xxxx User #xxxx
OK to store? YES

【0340】存在するプログラムを重ね書きすることができる状態にある。プログラムが保護される場合のみ、ユーザ#が現れる。

ユティリティファンクション

【0341】

【表41】

Select function
DIR-CONFIG-DIAG-DEL
UTIL display

【0342】DIRは、それらのプログラムの数、ユーザの数またはプログラムの型の何れかにより、記憶されたプログラムのディレクトリをユーザが見るか、あるいはプリントできるようにする。CONFIGは、特別の必要性に計器の使用をユーザが調整できるようにさせる。DIAGは、ランタイムの問題を診断しそして計器の性能を確認する手段をユーザに提供する。DELは、プログラムの数、ユーザの数またはプログラムの型により記憶されたプログラムをユーザが消去できるようにする。

ユティリティーディレクトリ

【0343】

【表42】

*に保護されたプログラムを無保護にするチャンスを与えられる。

【0337】

【表39】

Store
Enter user #xxxx

【0338】ユーザがプログラムを保護したい場合、ユーザ#を入力しなくてはならない。利用可能なスロットの中にプログラムを記憶できる状態にある。プログラムが保護される場合のみ、ユーザ#が現れる。

【0339】

【表40】

Prog #xxxx User #xxxx
OK to overwrite? YESDirectory
PROG-TYPE-USER-PRINT【0344】プログラム数によるディレクトリ

【0345】

【表43】

Directory
Enter program #xxx

【0346】プログラムは所定の数でスタートする数の順序で記載される。STEPキーおよびBACKキーはディレクトリ表示中動く。ビーパーは記載するプログラムの開始または終わりにおいて音を発する。

【0347】

【表44】

HOLD #124

【0348】STOPはユーザに上の表示に戻るようにさせる。

プログラムタイプによるディレクトリ

【0349】

【表45】

**Directory
HOLD-CYCL-AUTO-METH**

【0350】プログラムの数は、選択した型のプログラムについて記載される。

【0351】

【表46】

CYCL #15

【0352】ユーザ数によるディレクトリ

【0353】

【表47】

**Directory
Enter user #xxxx**

【0354】所定のユーザの数の下に記憶されたすべてのプログラムは記載されるであろう。

【0355】

【表48】

METH #150 User #1234

【0356】ディレクトリプリント

【0357】

【表49】

**Directory Print
PROG-TYPE-USER**

【0358】ユーザはディレクトリが前で見られた同一の方法で記載されるディレクトリのハードコピーを得ることができる。

ユティリティユーザの構成

【0359】

【表50】

**Configuration
EDIT-PRINT**

【0360】ファイルの構成は、メニューからEDITを受け取るか、あるいはSTEPキーを押すことによって編集することができる。PRINTはこのファイルの内容をプリントする。

【0361】

【表51】

**Time: xx:xx
Date: mm/dd/yy**

【0362】ユーザはシステムの時間および日付をセットすることができる。

【0363】

【表52】

**Runtime printer OFF
Runtime beeper ON**

【0364】ランタイムのプリンタがオンである場合、ユーザは各ランのスタートとしてプリンタのオプションで促進される。ランタイムのビーパーがオンである場合、プログラムを実行する間ビーパーは各セグメントの終わり（シーケンスのランプ（ramp）またはシーケンスの部分を保持した後）に音を出す。

【0365】

【表53】

**Pause time-out limit
xx:xx**

【0366】この時間は、プログラムがアポートする前にポーズすることができる時間の最大量を表す。これはキーパッドのポーズのみに関する。

【0367】

【表54】

**Allowed setpt error
x.x°C**

【0368】この時間は、エラーがフラッギングされる前に実際の試料温度が設定点から変化できる度数を表す。

【0369】

【表55】

Idle state setpoint
xx°C

【0370】この設定点は、常に存在する制御の冷却電力をバランスするために有用である。試料温度は、計器が使用されていないときはいつでも、アイドル状態設定点に維持される。

【0371】

【表56】

Start clock within
x.x°C of setpoint

【0372】実行中のプログラムの保持されたセグメントの時間を計るクロックは、試料温度のこの温度内を得るとき、トリガされるように構成することができる。名目上の値は1. 0°Cである。

【0373】

【表57】

Special tube? NO

【0374】ユーザがMicroAmpまたは薄い壁のGeneAmpの管以外の異なる型の管を使用しようとする場合、ユーザはYESに対してこのオプションをセットし、そして少なくとも3対の反応体積および管の時定数のデータを入力しなくてはならない。この曲線を使用して、実行の開始のときユーザが入力した反応体積に依存するこの特別な管を使用して、各ランについて正しいタウ（管の時定数）を外挿することができる。

【0375】

【表58】

Rxn vol=xxxxuL T=xxxx
Rxn vol=xxxxuL T=xxxx

【0376】ユーザが「特別の管」をYESにセットした場合、この3組のスクリーンが与えられる。

実用性-消去

【0377】

【表59】

Delete
PROGRAM-USER-ALL【0378】プログラムによる消去

【0379】

【表60】

Delete
Enter program fxxx

【0380】すべてのプログラム（ファイルおよび方法）は数により消去することができる。

【0381】

【表61】

Can't delete progxxx
Linked in methodxxx!

【0382】プログラムはある方法においてリンクした場合消去することができない。

【0383】

【表62】

Progxxx is protected
Enter user #xxxx

【0384】ユーザは保護されたプログラムの#を入力した。正しいユーザの#はこのプログラムを消去するため入力されねばならない。

【0385】

【表63】

Progxxx is protected
Wrong user number!

【0386】誤ったユーザの#が入力された。この表示は5秒間止まった後、前の表示に戻る。ユーザは正しい#を入力する3回のチャンスを与えられる。

【0387】

【表64】

Prog #xxxx User #xxxx
Delete program? YES

【0388】プログラムの消去準備。ユーザ#はプログラムが保護されたときのみ現われる。

ユーザによる消去

【0389】

【表65】

**Delete
Enter user #xxxx**

【0390】所定のユーザの数が与えられた後、プログラムを消去することができる。

【0391】

【表66】

**Delete
No progs with #xxxx**

【0392】所定のユーザの#を有するプログラムが存在しない場合、次のメッセージが表示される。

【0393】

【表67】

**Progs linked in meth
STEP to list progs**

【0394】プログラムがある方法においてリンクされる場合、プログラムを消去することができない。S T E Pキーは、リンクしたプログラムのリストを通してサイクルする。

【0395】

【表68】

**Can't delete progxxxx
Linked in methodxxxx!**

【0396】リンクしたプログラムのリストは、どの方法でプログラムをリンクしたかを示す。

【0397】

【表69】

**User #xxxx
Delete all progs?YES**

【0398】これはリンクされていない所定のユーザの#の下ですべてのプログラムを消去する。

全消去

【0399】

【表70】

**Delete every
unprotected prog?YES**

【0400】これは保護された方法でリンクされない、すべての保護されてないプログラムを消去する。

ユーティリティ-ユーザの診断

診断テストを実行している間、S T O Pキーはユーザをトップレベルの診断スクリーンにユーザを常に戻し、そしてテストの数および名前を次のテストに自動的に増加する。これは有効な診断を通してマニュアルサイクリングを促進する。

【0401】

【表71】

**Enter Diag Test #1
REVIEW HISTORY FILE**

【0402】ユーザは実行するため診断の数を入力することができるか、あるいは有効なテストを通して、サイクリングするためS T E PまたはB A C Kキーを使用できる。S T E PまたはB A C Kキーを押す毎に、テストの数は増減され、そして関連するテストの名前が表示される。この特徴は、ユーザが各テストに関連する数を記憶する必要性を排除する。

履歴ファイルのレビュー

【0403】

【表72】

**Enter Diag Test #1
REVIEW HISTORY FILE**

【0404】履歴ファイルは、500までの最近の実行のレコードを記憶することができる、バッテリー-RAM中の循環バッファである。バッファが充満されているとき、最も古い入力はオーバーライトされる。バッファはプログラムは実行された後自動的にクリアされる。

【0405】

【表73】

**HISTORY nnn recs
ALL-STAT-ERRORS-PRNT**

【0406】履歴ファイルのヘッダはファイル中の現在のレコードの数（「n n n」）を表示する。ALLはすべてのレコードを見る。STARTは状態のレコードのみを見る。ERRORSはエラーのメッセージをもつレコードのみを見る。PRINTは履歴ファイルのすべてまたは一部分をプリントする。レコードの2つの型は、

(1) プログラムについての情報を与える状態のレコードおよび(2) プログラムにおいて各保持およびランプセグメントについての情報を与えるデータのレコードである。保持プログラムは1つの保持セグメントとして処理され、そしてデータのレコードはファイルが終わるとき記憶される。数百の入力(50サイクル×6設定点=350入力)が存在できるので、ファイルを通る双方向の動作が要求される。ほとんどのPCRプログラムは3または6設定点および40サイクル以下であることは重要である。入力は通常逆の順序で概観され、こうして最初に見られるレコードは書き込まれた最後のレコードである。ユーザが見るべきレコードの型を選択した場合、STEPまたはBACKは選択した型の1回の入力によりバッファを上下する。前述のSTEPまたはBACKとある数とによって、第2ラインを「スキップ# x

ステータスのメッセージ

管の型: x x x x

反応体積: x x x μL

C1kスタートw/in x. x °C

スタートx x/x x/x x

x x : x x

終わりx x/x x/x x

x x : x x

方法の完結

ポーズx x : x x, x x. x °C

致命的なステータスのメッセージ

センサーのエラー

電力の故障x x. x 時間

ユーザのアボート

ポーズ タイムアウトx x : x x

致命的な設定点のエラー

x x 入力」で置換する。ユーザはある数を入力し、そしてENTERを押してその値を受け取り、そして入力の数はスキップされ、前進(STEP)または後進(BACK)する。前述のSTEPまたはBACKとRNUキーとによって、ユーザは選択した型の最大のレコード#(最新のレコード)またはレコード#1(最も古いレコード)に急速に移ることができる。STOPは外観モードを停止し、そしてファイルのヘッダを表示する。

ステータスのレコード

【0407】

【表74】

ffff #xxx/mmm	nnn
message	

【0408】「f f f f f」はHOLD、CYCLまたはAUTOである。「x x x」はプログラムの数である。「/mmm」はリンクしたプログラムについての方法の数、さもなければプランクである。「n n n」はレコードの数である。「メッセージ」は次の1つである。

実行において使用した試料管の型

実行において使用した反応体積

保持クロックは設定点のこの温度内でスタートする

実行のスタートの時間および日付

実行の終わりの時間および日付

方法にリンクしたすべてのプログラムは完結される

プログラムはこの温度においてこの時間の間ポーズした

センサーは1列で10回の悪い読みをした
電力はこの時間の間オフであった
ユーザはSTOPキーを実行の間に押す
キーパッドのポーズは、その構成可能な時間限界に到達した。

計算した時間以内に設定点に到達しない場合、プログラムをアボートするための要件であるか。開始ランプ温度(10°Cの増分に対して0°C~100°C)対終了のランプ温度(同一軸のラベリング)である10×10のルックアップテーブルは、TC2が任意の所定量の度でランプを上下するために要する平均時間を保持する。設定点が次のようにして計算した時間に到達しない場合、ファイルはアボートされる。

プログラムされたランプ時間 + (2 * ルックアップテーブルの値) + 10分

データのレコード

「f」はHOLD、CYCLまたはAUTOである
「x x x」はプログラムの数である

【0409】

【表75】

f#xxx/mmm ddd.dC nnn
Cycyy Setpt z mmm:ss

【0410】「/mmm」はリンクされたプログラムに対する方法の数であり、さもなければブランク

「d d d. d」は最終の設定点の温度である

「n n n」はレコードの数である

「y y」はサイクル数である

「z」は設定点の数である

「mmm. s s」は設定点の時間である

サイクルおよび設定点の数の分野は保持プログラムのために省略される。

データエラーのレコード

【0411】

【表76】

message ddd.dC nnn
Cycyy Setpt z mmm:ss

【0412】「d d d. d」は終わりの設定点の温度である

「n n n」はレコード数である

「y y」はサイクル数である

「z」は設定点の数である

「mmm: s s」は設定点の時間である

「mess a g e」は、次のように非致命的エラーを示す：

非致命的エラーのメッセージ

ステップのエラー 設定点は計算した時間で到達しなかった：

プログラム可能なランプ時間 + (2 * ルックアップテーブルの値)

プログラムのエラー 設定点の温度または時間の自動的プログラムの自動的増加／減少は、保持時間を負とさせるか、あるいは時間を0. 1 ~ 100°Cの中から外とする。

【0413】温度のエラー セグメントの終わりにおいて、設定点の温度はユーザの構成量を+/-にドリフトした。保持プログラムについて、サイクルおよび設定点のフィールドは省略される。

履歴ファイルをプリントする

履歴ファイルのヘッダのメニューを通して、履歴ファイルのプリントのルーチンにアクセスする。OPTIONのキーはオプションを通してカーソルをサイクルする。

【0414】

【表77】

HISTORY nnn recs
ALL-STAT-ERRORS-PRNT

【0415】PRNTがプリントスクリーンを表示している下でカーソルが位置づけられるとき、ENTERキーを押す：

【0416】

【表78】

Print History
ALL-STAT-ERRORS

【0417】

ALL ファイル中のすべてのレコードをプリントする
STAT ステータスレコードのみをプリントする
ERRORS エラーのメッセージをもつレコードのみをプリントする

プリントのオプションの1つが選択されるとき、次のスクリーンが表示される：

【0418】

【表79】

Print History
Print from prog #xx

【0419】第1(最も最近)のプログラム数は不履行のプログラムである。ユーザはプリントを開始すべきプログラムの数を変化させることができる。プリントの間、次のスクリーンが表示される：

【0420】

【表80】

Print History
...printing

【0421】プリントの終わりにおいて、プリントの履歴のメニューが再び表示される。

ヒータのテスト

【0422】

【表81】

**Enter Diag Test #2
HEATER TEST**

【0423】ヒータのテストは、その温度が35°Cから65°Cに上昇するとき試料ブロックの加熱率を計算する。試料ブロックがブロック温度を35°Cに戻すとき、次のスクリーンが表示される。

【0424】

【表82】

**Heater Test Blk=XX.X
going to 35C...**

【0425】温度が安定化したとき、すべてのヒータは全電力をオンにされる。ここで表示は「60°Cに行く」を読み、そしてブロック温度はブロック温度が50°Cを通過した後20秒間モニターされる。20秒後、合格または不合格のメッセージが表示される。

【0426】

【表83】

Heater Test PASSES

【0427】冷却テスト

【0428】

【表84】

**Enter Diag Test #3
CHILLER TEST**

【0429】冷却テストは、試料ブロックの温度が35°Cから15°Cに低下するとき、試料ブロックの冷却率を計算する。試料ブロックがブロック温度を35°Cにさせると、次のスクリーンが表示される。

【0430】

【表85】

**Chillr Test Blk=XX.X
going to 35C...**

【0431】温度が安定化されるとき、冷却器はオンである。ここで表示に「15°Cに行く」が読まれ、そしてブロック温度は試料ブロックが25°Cを通過した後20秒間モニターされる。20秒間、合格または不合格のメッセージが表示される。

【0432】

【表86】

Chiller test PASSES

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の教示に従う熱サイクル装置のブロック線図である。

【図2】本発明の教示に従う試料ブロックの平面図である。

【図3】バイアス冷却チャンネルおよびランプ冷却チャンネルを示す試料ブロックの側面図である。

【図4】試料ブロックの端面図である。

【図5】試料ブロックの端面図である。

【図6】図2中の切線6-6'に沿った試料ブロックの断面図である。

【図7】図2中の切線7-7'に沿った試料ブロックの断面図である。

【図8】図2中の切線8-8'に沿った試料ブロックの断面図である。

【図9】3ゾーンのフィルムヒータとブロック支持体との組立て後の試料ブロックの構造の側断面図である。

【図10】3ゾーンのフィルムヒータに対する電力制御の形態を示す電力ライン電圧のグラフである。

【図11】典型的な3インキュベーションPCRプロトコルを示す温度のグラフである。

【図12】局所的ゾーンの概念を示す試料ブロックの断面図である。

【図13】3ゾーンのヒータの平面図である。

【図14】低すぎる試料管配置力Fのτの作用を示す、試料温度対時間のグラフである。

【図15】試料ブロックの中に配置された試料管およびキャップの断面図である。

【図16】(A) RC回路のインパルスの応答のグラフである。(B) インパルス励起パルスのグラフである。

(C) ブロックの熱インパルスの応答および温度履歴のくりこみが計算した試料温度を与える方法を示すグラフである。(D) 試料ブロック/試料管システムの熱的応答の電気的アナログを示す。

【図17】3ゾーンのヒータの制御に使用する方程式についての比例定数が適切にセットされるとき、6つの異なる試料のすべての計算した温度が標的温度上で互いに約0.5°C以内へ収束する仕方を示す。

【図18】変性標的温度が発生したDNAの量に影響を与える方法を示すグラフである。

【図19】スライドカバーおよび加熱された定盤の断面図である。

【図20】スライドカバー、試料ブロックおよび加熱された定盤の下降に使用するノブの斜視図である。

【図21】(A) 試料ブロック上に配置されたときの、フレーム、リティナー、試料管およびキャップの1つの実施態様のアセンブリーの断面図である。(B) 試料ブロック上に配置されたときの、フレーム、リティナー、試料管およびキャップの好ましい実施態様のアセンブリーの断面図である。

【図22】マイクロタイターブレートについてのプラスチックの使い捨てフレームの頂面図である。

【図23】フレームの底面図である。

【図24】フレームの端面図である。

【図25】フレームの他の端面図である。

【図26】図22における切線26-26'に沿ったフレームの断面図である。

【図27】図22における切線27-27'に沿ったフレームの断面図である。

【図28】フレームのへりの正面図および部分断面図である。

【図29】好ましい試料管の断面図である。

【図30】試料管の上部の断面図である。

【図31】キャップのストリップの部分の正面図である。

【図32】キャップのストリップの一部分の頂面図である。

【図33】96ウェルのマイクロタイタートレーのプラスチックの使い捨てリティナー部分の頂面図である。

【図34】リティナーの部分切断側面図である。

【図35】リティナーの端面図である。

【図36】図33における切線36-36'に沿ったリティナーの断面図である。

【図37】図33における切線37-37'に沿ったリティナーの断面図である。

【図38】96ウェルのマイクロタイタートレーのプラスチックの使い捨て支持体のベースの平面図である。

【図39】ベースの底面図である。

【図40】ベースの側面図である。

【図41】ベースの端面図である。

【図42】図38において切線42-42'に沿った支持体のベースの断面図である。

【図43】図38において切線43-43'に沿った支持体のベースの断面図である。

【図44】図38において切線44-44'に沿った支持体のベースの断面図である。

【図45】いくつかの試料管およびキャップが所定位置にあるマイクロタイタートレーからなる、プラスチックの使い捨て物品の分解斜視図である。

【図46】図1における冷却液制御システム24の線図である。

【図47】本発明に従う制御エレクトロニクスのプロック線図である。

【図48】本発明に従う制御エレクトロニクスのプロック線図である。

【図49】典型的なツェナー温度センサの概略図である。

【図50】典型的な試料期間の時間ライン線図である。

【図51】商品名MAX I AMPで市販されている、高い薄い壁の試料管の側断面図である。

【図52】薄い壁の試料管および厚い壁の先行技術の管の間の応答時間の差を示すグラフである。

【図53】試料管およびキャップの平面図である。

【図54】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【図55】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【図56】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【図57】パワーアップ試験順序のフローチャートである。

【符号の説明】

1~7…カラム

10…試料

12…試料ブロック

14…加熱されたカバー

16…端末

18, 22…バス

20…制御コンピュータ

24…冷却液制御システム

26…入力管

28…出力管

30, 32…管

34…熱交換器

36…入力管

38…出力管

39…溜

40…冷却装置

41…ポンプ

42…ファン

44…フィン管凝縮器

45, 46…管

47…分岐交差

48…熱

- 4 9 …バイアス冷却チャンネル
 5 0 …管
 5 1 …レストリクター
 5 2, 5 4 …バス
 5 3 …入力
 5 5 …2状態のソレノイド作動弁
 5 6 …周囲空気温度センサー
 5 7 …ランプ冷却チャンネル
 5 8 …ライン
 6 1 …温度センサー
 6 3 …センサー
 6 7 …円錐形壁
 6 8 …試料ウェル
 7 0 …溜
 7 8 …みぞ、スロット
 8 2 …点
 8 3, 8 9, 9 0 …試料ウェル
 9 1, 9 3, 9 5, 9 7, 9 9 …冷却チャンネル
 1 0 0 ~ 1 0 7 …ランプ冷却チャンネル
 1 1 6 …底面
 1 2 2 …ハイブリダイゼーションインキュベーション
 1 2 8, 1 3 0, 1 3 2 …孔
 1 3 0, 1 3 2 …ねじ孔
 1 3 4 ~ 1 4 3 …孔
 1 4 6 …ボルト
 1 4 7 …スピルカラー
 1 4 8 …はがね支持ブラケット
 1 5 0, 1 5 2 …コイルばね
 1 5 4 …はがね圧力板
 1 5 6 …マルチゾーン試料ブロックフィルムヒータ
 1 5 8 …シリコーンゴムのパッド
 1 6 0 …エポキシ樹脂フォームの層
 1 6 2 …ネガティブのハーフサイクル
 1 6 4 …ポジティブのハーフサイクル
 1 6 6 …分割線
 1 7 0 …変性インキュベーション
 1 7 2 …ハイブリダイゼーションインキュベーション
 1 7 4 …伸長インキュベーション
 1 9 8 …冷却チャンネル
 2 0 0, 2 0 2 …局所的領域
 2 2 8, 2 3 0 …へりの表面
 2 3 4 …試料ウェル
 2 5 0, 2 5 2 …へり
 2 5 4 …中央ゾーン
 2 5 6, 2 5 8 …へりヒータ領域
 2 6 0, 2 6 2 …マニホールドヒータ領域
 2 6 6, 2 6 8 …プラスチック冷却液マニホールド
 2 7 6 …試料混合物
 2 8 2 …温度応答曲線
 2 8 8 …試料管
- 2 9 2 …対流の流れ
 2 9 4 …ピーク
 3 1 2 …親ねじ
 3 1 6 …すべりカバー
 3 1 8 …ノブ
 3 2 0, 3 2 2 …レール
 3 2 4, 3 2 6 …試料管
 3 3 2, 3 3 4 …インデックスマーク
 3 3 6 …飾り板
 3 3 8 …プラスチックキャップ
 3 4 0 …プラスチックトレー
 3 4 2 …マイクロタイタープレートのフレーム
 3 4 6 …上部のへり
 3 6 8 …円錐形プラスチック壁
 3 7 2 …水平のプラスチックプレート
 3 7 6 …試料管
 3 7 8 …内側へり
 3 8 2 …孔の対向するへり
 3 8 6 …リティナー
 3 9 4 …ウェブ
 3 9 6 …タブ
 4 0 2 …単一の水平のプラスチック平面
 4 1 0 …孔
 4 1 4 …プラスチックタブ
 4 1 6, 4 1 8 …スロット
 4 2 0 …ベース
 4 2 4 …典型的な試料管
 4 5 0 …マイクロプロセッサ
 4 5 2 …アドレスバス
 4 5 4 …データバス
 4 5 6 …E P R O M
 4 5 8 …パッテリーバックアップR A M
 4 6 0 …システムロック／カレンダー
 4 6 2 …アドレスデコーダー
 4 6 4 …チップセレクトバス
 4 6 6 …キーボード
 4 6 8 …ディスプレイ
 4 7 0 …キーボードインターフェース回路
 4 7 2, 4 7 4 …プログラム可能な間隔タイマ
 4 7 6 …割込みコントローラー
 4 7 8 …U A R T
 4 8 0 …R A M
 4 8 2 …プログラム可能な割り込み制御装置（P I C）
 4 8 4 …プログラム可能なアレイ論理チップ（P A L）
 4 8 6 …12ビットのアナログ対デジタルコンバータ
 — (A/D)
 4 9 2, 4 9 4 …マルチプレクサ
 4 9 6 …2, 0 0 0 オームの抵抗器
 4 9 8 …+15ボルトの調整された電力供給
 5 0 0 …ゼンナーダイオード

506…較正電圧発生器
 512…RMS 対 DC コンバーター回路
 516…ステップダウントランス
 530, 532, 534, 536…光学的に連結された
 トライアックドライバー
 538…制御バス
 546, 548…熱的カットアウトスイッチ
 550…「パーソナリティ」プラグ
 566…ゼロ交差検出器
 568…2ラインバス
 570…電力トランス
 572, 574…調整された電力供給
 576…非調整電力供給
 578…アナログ増幅器

590…間隔
 592…開始時間
 594…時間
 600…出力ライン
 602, 604…単安定マルチバイブレータ
 614…ソレノイドコイル
 616…電力供給「レール」
 620…電流制限抵抗器
 624…ソレノイド作動弁
 632…タイムアウトワンショット
 650…ポリプロピレンのキャップ
 652…プラスチックウェブ
 ■する。
 【0022】

フロントページの続き

(72) 発明者 ジョン ギルドナー アトウッド
 アメリカ合衆国, コネチカット 06896,
 ウエストレッディング, ライムキルン ロ
 ード 149
 (72) 発明者 フェントン ウィリアムズ
 アメリカ合衆国, コネチカット 06804,
 ブルックフィールド, ストニー ヒル ビ
 レッジ 72
 (72) 発明者 ティモシー エム. ウッデンバーグ
 アメリカ合衆国, コネチカット 06801,
 ベセル, ノールウッド ドライブ 72

(72) 発明者 マーセル マーグリーズ
 アメリカ合衆国, ニューヨーク 10583,
 スカーズダル, ファーラガット ロード
 27
 (72) 発明者 ロバート ピー. ラグサ
 アメリカ合衆国, コネチカット 06470,
 ニュートン, ウィレイ ランド 3
 (72) 発明者 リチャード リース
 アメリカ合衆国, カリフォルニア 94107,
 パークレイ, アラメダ 1136

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.